THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR L'OBTENTION

DU GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Claudine SORIA

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude biologique des liquides synoviaux normaux et pathologiques

PARTICIPATION DE DIFFÉRENTS FACTEURS DE LA COAGULATION DANS LE PROCESSUS DE L'INFLAMMATION

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 7 novembre 1968

JURY : *MM. les Professeurs* M. L. GIRARD — *Président*
M. PIETTE, J. CAEN — *Examinateurs*

J.A.T.
1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538115_0038

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR L'OBTENTION

DU GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Claudine SORIA

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude biologique des liquides synoviaux normaux et pathologiques

PARTICIPATION DE DIFFÉRENTS FACTEURS DE LA COAGULATION DANS LE PROCESSUS DE L'INFLAMMATION

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 7 novembre 1968

JURY : *MM. les Professeurs* M. L. GIRARD — *Président*
M. PIETTE, J. CAEN — *Examinateurs*

J.A.T.
1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX ET PATHOLOGIQUES

Participation de différents facteurs de la coagulation dans le processus de l'inflammation

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MALANGEAU P.	DOYEN
GUILLOT M.	Assesseur, O ✻
DELAVEAU P	Assesseur
RODINEAU L.	Secrétaire Général, ✻
FERRARI (Mme S.)	Attaché principale
JEANDEL L.	Attaché
ESPINASSE (Mme M.-L.) ..	Attaché
BRENN A.	Attaché, ✻
JACOB A.	Attaché, ✻
MUR (Mme A.-M.)	Attaché
FRIZOL (Mlle E.)	Attaché
TRICAN J.	Attaché

PROFESSEURS HONORAIRES

LAUNOY L.	O ✻
FLEURY P.	O ✻
PICON M.	O ✻

PROFESSEURS

JANOT M.-M., O ✻, Membre de l'Institut	Pharmacie Galénique (T)
VALETTE G., O ✻	Pharmacodynamie (T)
PARIS R., ✻	Matière Médicale (T)
GUILLOT M., O ✻	Physique (T)
GAUTIER J.-A., O ✻	Chimie Organique (T)
LAMBIN (Mlle S.), ✻	Microbiologie (T)
RAOUL Y., ✻	Physiologie (T)
COURTOIS J. ✻	Chimie Biologique (T)
DOMANGE L., O ✻	Chimie Générale et Minérale (T)
TRUHAUT R., O ✻	Toxicologie (T)
MORETTE A., ✻	Hydrologie (T)

CAVIER R., ✻	Parasitologie (T)
QUEVAUVILLER A., ✻	Hygiène et Education Sanitaire (T)
MOREAU R., ✻	Pharmacie Chimique (T)
GERMAN A.	Virologie et Sérologie (T)
PIETTE M., ✻	Biologie Sanguine, Hématalogie (T)
MALANGEAU P	Chimie Analytique (T)
GIRARD M., ✻	Biochimie Appliquée (T)
DILLEMANN G.	Législation, Déontologie et Histologie de la Pharmacie (T)
DEYSSON G.	Botanique (T)
MICHEL R.	Endocrinologie (T)
FLAHAUT J.	Minéralogie (T)
RENAULT J.	Chimie Organique (T)
LE HIR A.	Pharmacie Galénique (T)
BOUDENE C.	Toxicologie et Hygiène Industrielle (T)
DELAVEAU P.	Matière Médicale et Séméiologie
LARUELLE P.	Physique
ROSSIGNOL P.	Pharmacodynamie
MANGEOT A.	Pharmacie Galénique Industrielle
COHEN Y.	Pharmacodynamie
RENAULT H.	Physique
BOURDON R.	Chimie Analytique
REYNAUD P.	Pharmacie Chimique
LE MOAN R.	Toxicologie
POISSON J.	Pharmacie Galénique
LECLERC M.	Hématologie

MAITRES DE CONFERENCES

PAOLETTI C.	Toxicologie
DESVIGNES A.	Cryptogamie et Technique Bactériologique
PERCHERON F.	Chimie Biologique
SAVEL J.	Biologie Animale
BORY M.	Microbiologie
MIOCQUE M.	Chimie organique

GUIGNARD J.L.	Botanique Générale
GOUNELLE J.C.	Physiologie
BINET P.	Biologie Animale
COMBET-FARNOUX C.	Chimie Organique
PLAT (Mme M.)	Législation et Déontologie Pharmaceutique
DELACOUX E.	Pharmacie Chimique
ADOLPHE C.	Physique
GUERNET M.	Chimie Analytique et Bromatologie
DIDRY J.	Mathématiques
KHODADAD P.	Chimie Minérale et Minéralogie
PERLES R. (F.F.)	Chimie Biologique
YONGER J. (F.F.)	Chimie Analytique
RIVET J. (F.F.)	Chimie Générale et Minérale
HAZEBROUCQ (F.F.)	Physique
ETIENNE J. (F.F.)	Mathématiques
MESTRE J. (F.F.)	Botanique
BOURRINET P. (F.F.)	Hygiène Education Sanitaire
SOULEAU Ch. (F.F.)	Chimie Générale et Minérale

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

AGNERAY J.	T.P. Chimie Biologique 3e année
ASTIN C. (F.F.)	T.P. Physique 1re année
BARNIER (Mme S.)	Mathématiques
BERNARD (Mlle J.)	T.P. Microbiologie
BESANCON (F.F.)	Mathématiques
BIGET (Mme M.-P.)	Mathématiques
BLANC (Mme J.)	E.D. Chimie Organique
BONALY (Mme J.) (F.F.)	T.P. Botanique
BOURNIQUE (Mlle C.) (F.F.)	T.P. Physiologie Végétale 2e année
BRALET M. (F.F.)	T.P. Zoologie 1re année
BUNEAUX J.	Physiologie
CARLIER A.	C.E.S. Pharmacie Galénique Industrielle
CARRE D. (F.F.)	Chaire de Physique (Mathématiques)

CENAC (Mme J.) (F.F.)	C.E.S. Parasitologie Pharmaceutique et Technique
CHARPENTIER (Mme M.) ..	E.D. Chimie Minérale et Générale 1re année
CHOIX (Mlle M.)	T.P. Pharmacie Galénique 3e année
CLAIR (Mlle G.) (F.F.)	E.D. Essais des drogues végétales
COMPAGNON P. (F.F.)	E.D. Chimie Organique
DAGRON Ch.	E.D. Chimie Générale et Minérale 3e année
DAVY J. (F.F.)	C.E.S. Biochimie
DECAUDIN (Mlle M.-Th.) ..	T.P. Parasitologie 4e année
DELCOURT A. (F.F.)	T.P. Botanique
DREUX C.	C.E.S. Electrochimie Appliquée à l'Analyse
DUMANT (Mlle G.)	C.E.S. Contrôle des Médicaments (Physico-Chimie)
DUCLOS J.-P.	Chaire de Chimie Organique
DUPONT (Mme Ch.)	T.P. Pharmacodynamie 4e année
ETIENNE G.	T.P. Pharmacie Galénique 2e et 3e années
FAURE (Mme L.) (F.F.)	E.D. Chimie Organique 1e année
FLEURY (Mlle S.)	E.D. Chimie Analytique Qualitative
FOGLIETTI (Mlle A.-M.) (F.F.)	T.P. Chimie Biologie 3e et 4e années
GAYRAL P. (F.F.)	Zoologie 1re année
GOURSAT (Mlle M.-J.) (F.F.)	E.D. Botanique 1re année
HAMON M.	T.P. Chimie Analytique Quantitative
HARISPE J.	T.P. Chimie Organique 2e année
HENRY J.	T.P. Chimie 4e année
HUBERT (Mme J.)	C.E.S. Bactériologie Parmaceutique et Technique
JULIEN R. (F.F.)	E.D. Chimie Générale et Minérale
JUND (Mlle Y.)	C.E.S. Microbiologie
LALEGERIE P. (F.F.)	C.E.S. Biochimie

LAROCHE J.	T.P. Physique 2e année
LEBŒUF M. (F.F.)	C.E.S. Pharmacotechnie Chimique et Galénique
LEDUC (Mme Y.)	T.P. Chimie 4e année
LEGER (Mme N.)	Parasitologie 4e année
LELUC R.	T.P. Microbiologie 4e année
LEMONNIER A.	T.P. Chimie Analytique Quantitative
LEVILLAIN P.	E.D. Chimie Analytique
LIKFORMAN J.	E.D. Physique 1re année
LONGEVIALLE (Mlle M.)	E.D. Botanique 1re année
MACCARIO J. (F.F.)	Mathématiques 1re année
MAHUZIER G. (F.F.)	T.P. Chimie Analytique Qualitative
MANDEREAU J.	C.E.S. Pharmacotechnie Chimique et Galénique
MARTIN FRERES H.	T.P. Chimie Minérale 1re année
MAUGUEN Y. (F.F.)	Chaire de Physique
MICHELET (Mlle A.) (F.F.)	E.D. Chimie Générale et Minérale 2e année
MORIN (Mlle H.)	C.E.S. Pharmacodynamie et Essais Biologiques des Médicaments
MOULIN P. (F.F.)	T.P. Physique 1re année
N'GUYEN PHU LICH (F.F.)	C.E.S. Toxicologie et Etudes Sanitaires
NOTTEGHEM (Mme J.) (F.F.)	T.P. Zoologie 1re année
PARIS M.	C.E.S. Contrôle des Médicaments (Biologie)
PESTIS J.	T.P. Anatomie et Physiologie 2e année
POULLAIN P.	C.E.S. Hématologie
QUENEZ P. (F.F.)	Chaire de Chimie Générale et Minérale
RAYNAUD G.	Physiologie
ROBERT (Mme M.)	C.E.S. Immunologie Générale et Appliquée
RODIER N. (F.F.)	T.P. Physique 2e année
ROLLEN (Mlle A.)	T.P. Botanique 1re année
ROUSSELET F.	Biochimie Appliquée

ROUSSELET (Mlle R.) (F.F.)	T.P. Essais des Drogues Végétales
SEILLER (Mme M.) (F.F.)	C.E.S. Pharmacie Galénique et Industrielle
STRUPLER (Mlle N.)	T.P. Chimie Générale et Minérale 1re année
THUONG CONG TRIEU	T.P. Chimie Analytique Quantitative
TROUPEL (Mlle S.) (F.F.) ..	T.P. Chimie Analytique Qualitative
VIERFOND J.M. (F.F.)	E.D. Chimie Organique 1re et 2e années
VILLERS J. (F.F.)	Physique

BIBLIOTHEQUE

RUYSSEN (Mlle Y.)	Conservateur en chef, ✻
LAVAUD (Mlle S.)	Conservateur, ✻
DESGRIPPES (Mme A.)	Conservateur
BOUVRESSE (Mlle A.M.) ...	Bibliothécaire

A MA MERE

à qui je dois tout, son appui et sa sollicitude ont constamment soutenu mes efforts.

A MON PERE

qui, en me donnant l'exemple de sa probité professionnelle a été mon premier Maître.

A MA SŒUR

collaboratrice de tous les instants.
En témoignage de tendre gratitude.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur GIRARD

Après une initiation à la chimie biologique à ses cours de Faculté, il m'a accueillie dans son beau Service de Lariboisière. Pendant cinq ans comme Interne, puis trois ans comme Attachée de Biologie, j'ai été guidée par son jugement sûr et sa pensée clairvoyante. Au cours de cette recherche, il m'a communiqué son enthousiasme et m'a prodigué ses précieux conseils. Qu'il veuille reconnaître dans ce travail une modeste expression de son riche enseignement et accepter avec Madame GIRARD le témoignage de mon respect et de mon affectueux attachement.

A Monsieur le Professeur PIETTE

qui, avant de me faire l'honneur de juger ce travail,
m'a prodigué son incomparable enseignement.
En témoignage de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Jean BERNARD

qui m'a fait l'honneur insigne de m'intégrer dans son Service et de me confier une partie de l'enseignement pratique de l'hémostase.

En témoignage de mon admiration respectueuse.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur Agréré CAEN

qui a bien voulu me compter parmi ses élèves. Il m'a initiée à la recherche en hématologie avec un dévouement inlassable. Au cours de ce travail qu'il a dirigé, il m'a fait largement bénéficier de sa haute compétence et de ses précieux conseils.

Qu'il soit assuré de mon respectueux attachement et de mon immense gratitude.

A Madame le Docteur M.-J. LARRIEU

Maître de Recherches à l'INSERM

Elle m'a témoigné la plus grande patience, m'a fait aimer l'hémostase et la recherche. Elle a constamment guidé ce travail. D'un chapitre à l'autre, cet ouvrage est le sien.

Qu'elle veuille bien trouver ici avec l'expression de ma respectueuse reconnaissance, l'assurance de mon attachement.

A Monsieur le Professeur Agrégé KAHN

qui a bien voulu m'associer à ses travaux. Il a été l'initiateur de ce travail et n'a cessé de m'encourager au cours de mes recherches en me témoignant une affectueuse compréhension.

Avec l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur de SEZE

Il m'a permis de réaliser ce travail avec ses collaborateurs, qui m'ont abondamment communiqué leurs observations cliniques.

Je le prie de trouver ici l'expression de mes remerciements déférents.

A Monsieur le Docteur SAMAMA

Chef de Travaux à la Faculté

qui m'a initiée à l'hémostase et m'a encouragée, avec beaucoup de bienveillance, à poursuivre des recherches dans cette voie.

Je le prie de trouver ici l'expression de mon profond remerciement.

A Madame M.-L. ESPINASSE

Attaché d'Administration Universitaire

Sa sagacité et sa solide connaissance des usages de notre Faculté ont toujours facilité mes démarches. Je la prie de trouver ici mes respectueuses et reconnaissantes pensées.

A mes amis du Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Lariboisière, et du Laboratoire d'Hémostase du Centre Hayem à l'Hôpital Saint-Louis.

Pour l'amical intérêt qu'ils m'ont toujours témoigné ; Qu'ils trouvent ici l'expression de mes vifs remierciements.

A Monsieur Bruno GUERIN

Interne des Hôpitaux de Paris

Sa collaboration m'a permis de réaliser une partie de ce travail. Merci.

A Monsieur le Docteur SOLNICA

Assistant des Hôpitaux de Paris

Pour son aide précieuse. Avec mon profond remerciement.

INTRODUCTION

Le liquide synovial est élaboré par la membrane synoviale. Il assure la lubrification des surfaces articulaires. L'analyse de ce liquide permet, à l'heure actuelle, de faciliter le diagnostic d'un certain nombre d'arthrites et de formuler des hypothèses expliquant la pathogénie des différentes affections articulaires inflammatoires. Le mécanisme de l'inflammation reste discuté, il est complexe et met en jeu différents facteurs chimiques, cellulaires et tissulaires. Le rôle des facteurs de coagulation a été suggéré récemment par KELLERMEYER (58) et RATNOFF (113). En effet, l'activation du facteur Hageman (facteur XII) entraîne parallèlement l'activation de plusieurs systèmes : coagulation, fibrinolyse et système kallikréinogène - kallikréine - kinine. Ces auteurs envisagent, dès lors, que le mécanisme de l'inflammation dans la crise de goutte aiguë peut être sous la dépendance de l'activation du facteur Hageman, présent dans le liquide synovial, par les cristaux d'urate de sodium. Par ailleurs, l'arthrite expérimentale à la fibrine est bien connue. On sait aussi que les franges du pannus synovial dans la polyarthrite rhumatoïde semblent s'organiser autour de dépots de fibrine, terme de la coagulation.

Ces éléments nouveaux justifient nos recherches effectuées sur les facteurs de coagulation des liquides synoviaux normaux et des liquides provenant de sujets porteurs d'atteintes articulaires diverses (arthrose, goutte, arthrite rhumatoïde). Parallèlement, il convenait d'apprécier les caractères physiques de ces différents liquides, leur contenu en éléments cellulaires et en enzymes d'origine lysosomiale (taux de phosphatase acide).

Ce travail a nécessité la mise en œuvre de nombreuses techniques d'étude de la coagulation et de la fibrinolyse ; le milieu très spécial, que constitue le liquide synovial, nous a conduit à effectuer un grand nombre de contrôles et à définir un protocole d'investigation biologique utilisable pour étudier la coagulation de liquides biologiques divers. Les résultats obtenus nous ont permis d'une part de vérifier, de compléter certaines hypothèses et d'en envisager de nouvelles sur la pathogénie des différentes affections articulaires inflammatoires, et d'autre part d'établir un certain parallélisme entre l'expérimentation et la clinique humaine.

PREMIÈRE PARTIE

L'INFLAMMATION ARTICULAIRE POSITION ACTUELLE DU PROBLÈME

L'inflammation frappe souvent les articulations et les tissus conjonctifs de soutien. KAHN et collaborateurs définissent l'inflammation (56) « comme un ensemble de réactions tissulaires complexes provoquées par une agression variable d'un cas à l'autre. Elle tend en général vers l'élimination de l'agent agressif et des tissus qu'elle a lésés, puis, vers la réparation et le remplacement de ces tissus. Elle peut cependant être un phénomène néfaste qui dépasse ce que nous considérons comme son but avec, pour conséquence, la création de lésions sévères des tissus ». Cette définition générale s'applique au milieu particulier que constitue le liquide synovial.

L'inflammation est connue depuis longtemps, puisqu'il y a 2.000 ans déjà CELSIUS décrivait ses quatre aspects cliniques principaux : rougeur, chaleur, gonflement et douleur. Mais il a fallu attendre CONHEIM et METCHNIKOFF au siècle dernier, pour commencer à envisager les causes et les mécanismes de ces syndromes dont les deux éléments principaux sont :

1°) la vasodilation avec augmentation de la perméabilité vasculaire,

2°) la diapédèse plasmatique et cellulaire vers le foyer inflammatoire.

En même temps sont décrits les aspects histologiques de l'inflammation. Au cours de ce siècle, l'étude de l'inflammation intéresse de nombreux chercheurs dans des disciplines très diverses (pharmacologie, histologie, biologie).

I. - ROLE DES MEDIATEURS CHIMIQUES DANS L'INFLAMMATION

A) **HISTAMINE** (5, 13, 100, 123)

LEWIS, le premier, incrimine les médiateurs chimiques dans la pathogénie de l'inflammation et évoque le rôle de l'histamine, substance chimique libérée par les mastocytes au niveau des tissus lésés et dont le rôle a été considéré pendant très longtemps comme primordial. En réalité, l'échec des antihistaminiques, en tant que protecteurs de la réaction inflammatoire, démontre que l'histamine n'est pas seule en cause dans la réaction phlogogène.

B) **SEROTONINE** (5 H.T)

Un deuxième médiateur, la sérotonine ou hydroxy-5-tryptamine, fut incriminé (37, 123, 139). Elle ne semble pas non plus seule responsable de l'inflammation, car l'administration des antisérotonines, actuellement synthétisées, reste sans effet thérapeutique.

C) **SYSTEME KALLIKREINE-KININE.**

La théorie la plus récente et aussi la plus complexe fait intervenir le système kallikréine-bradykinine, et fait appel aux facteurs de coagulation.

La découverte de ce système a été favorisée par les travaux préliminaires de VALY-MENKIN (89) qui extrait des liquides inflammatoires un polypeptide : la leucotaxine, qui favorise la diapédèse des leucocytes et augmente la perméabilité vasculaire. Depuis ROCHA E SILVA (119, 120, 121) a mis en évidence un autre polypeptide : la bradykinine, qui jouerait un rôle très important dans l'inflammation.

1°) ETUDE DU SYSTEME.

La formation de bradykinine, médiateur de la réaction inflammatoire, est l'aboutissement d'une suite de réactions enzymatiques groupées sous le nom de système K-K-K (kinine-kallikréinogène kallikréine), comme l'indique le **tableau I.**

La biogénèse de bradykinine, d'après LEWIS, résulte de l'action sur des α 2 globulines plasmatiques ou kininogènes (70, 72) d'un enzyme protéolytique : la trypsine d'une part (41), ou la kallikréine, d'autre part.

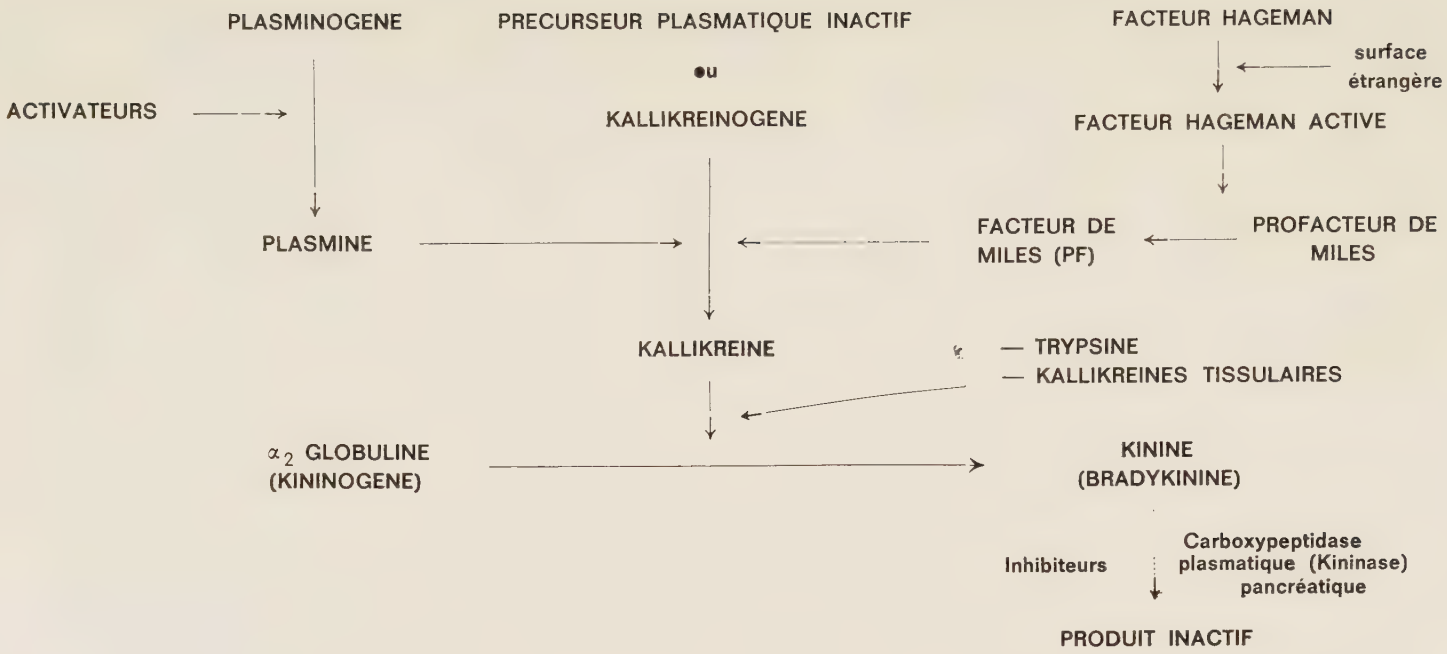


TABLEAU I - FORMATION DE DESTRUCTION DE LA KININE PLASMATIQUE

— **Les kininogènes** sont des protéines synthétisées par le foie. Il en existe deux, différenciées par leur taille (86).

— **Les kallikréines** sont des enzymes endogènes agissant spécifiquement sur le kininogène pour libérer la kinine. Ces enzymes sont très répandus. On distingue :

— les kallikréines tissulaires surtout mises en évidence dans le pancréas, la salive, la sueur, les glandes salivaires qui libèrent à partir du kininogène deux polypeptides : la kallidine (144) et surtout la bradykinine.

— la kallikréine plasmatique ne libérant que la bradykinine (71). Elle existe sous forme inactive dans le sérum : le kallikréinogène. La transformation en produit actif nécessite l'intervention d'un autre enzyme, le facteur de perméabilité de MILES.

L'action des kallikréines est inhibée par le diisopropylfluorophosphate, par l'inhibiteur de trypsine extrait du soja (S.B.T.I.) et par l'inhibiteur de KUNITZ.

— **Le facteur de perméabilité de MILES** (91, 92) a été mis en évidence par l'expérience suivante : le plasma de cobaye, fortement dilué dans du soluté isotonique de chlorure de sodium, puis laissé pendant une heure à la température ambiante, acquiert le pouvoir d'augmenter la perméabilité capillaire, comme en témoigne le test au bleu Evans ou au bleu de Pontamine chez le cobaye (96). Au cours de cette incubation, le profacteur de MILES (Pro P F) est activé en facteur de perméabilité (P F) (26). Ce facteur (P F) et la kallikréine ont certains caractères communs (150) intéressant :

— la propriété enzymatique, inhibée par le diisopropyl fluorophosphate et le S.B.T.I.,

— le pouvoir pathogène expérimental : injectés à l'animal, les deux produits purifiés induisent une hypotension quand l'administration est effectuée par voie endo-veineuse, et une augmentation de perméabilité capillaire lorsque l'inoculation est réalisée localement.

Cependant, ces deux substances présentent des caractères différentiels concernant :

— la mobilité : l'électrophorèse en permet la séparation,

— la thermostabilité : la kallikréine libère des kinines en présence de plasma indifféremment frais ou chauffé (à 63° C pendant 1 heure), tandis que le P.F. des MILES n'est actif qu'au contact de plasma frais.

Pour certains auteurs, ces deux facteurs agiraient dans deux systèmes différents pour libérer la kinine, mais pour la majorité, le P.F. interviendrait dans l'activation du kallikréinogène, aboutissant à la kallikréine.

— **Le facteur XII de coagulation ou facteur Hageman** jouerait à ce stade un rôle primordial (54). En effet, si la dilution du plasma de cobaye se fait en tubes siliconés, la libération du facteur de perméabilité est faible (79), ce qui laisse entrevoir le rôle du facteur Hageman ou facteur XII de la coagulation (non activé lorsque le plasma est introduit dans un tube siliconé). Ainsi, l'activation du facteur XII entraînerait à son tour l'activation du profacteur de MILES conduisant à la libération des médiateurs phlogogènes. De nombreux travaux ont été effectués, citons ceux d'EISEN (24), de MARGOLIS (82, 84, 85), de RATNOFF et coll. (39, 113, 114, 146).

Une étude plus détaillée du facteur XII et des autres facteurs de la coagulation intervenant dans la pathogénie de l'inflammation sera envisagée plus loin.

— **La plasmine** peut également assurer la transformation du kallikréinogène en kallikréine (143, 145). Ce mécanisme semble être aussi relié au facteur Hageman car, selon certains auteurs (45, 46, 51, 94), l'activation de ce dernier entraîne la libération de plasmine à partir du plasminogène.

2°) CARACTERE DE LA BRADYKININE.

Ce polypeptide, formé de l'association de neuf acides aminés, (27) reste au centre des recherches actuelles grâce à ses propriétés vasodilatatrices sur les vaisseaux, ses propriétés phlogogènes et algogènes. En effet, ce principe actif isolé est capable de reproduire expérimentalement tous les signes de l'inflammation chez l'animal (18, 28, 117, 118) :

— l'augmentation locale de la perméabilité vasculaire (12), mise en évidence par le test au bleu Evans chez le cobaye,

— la contraction lente des muscles lisses,

— la vasodilatation locale, (son action est intense mais de courte durée),

— la diapédèse leucocytaire (mais seulement à fortes doses),

— la douleur en applications locales.

Ainsi, la bradykinine apparaît comme un médiateur possible de la réaction inflammatoire différent, semble-t-il, de la kallidine avancée par certains auteurs (144).

3°) ROLE DE LA BRADYKININE DANS LA PATHOGENIE DE L'ARTHRITE RHUMATOIDE ET DE LA CRISE DE GOUTTE AIGUE.

Deux théories s'affrontent :

— Pour l'une, la bradykinine serait responsable du syndrome inflammatoire : elle est retrouvée dans les liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde (MELMON et coll. (35, 88)) et impliquée également dans la pathogénie des crises de goutte aiguë (EISEN, KELLERMEYER, RATNOFF) (24, 60).

— Pour l'autre, l'intervention de la bradykinine dans la pathogénie des affections rhumatismales est controversée. PHELPS et Mac CARTY (107), en effet, apportent des arguments allant à l'encontre du rôle de la bradykinine dans l'arthrite microcristalline expérimentale du chien :

- L'injection intra-articulaire de bradykinine induit une augmentation brutale, mais transitoire de la pression, qui se trouve totalement annulée par l'administration concomitante de son inhibiteur spécifique, la carboxypeptidase B (29, 33, 34).

- Par contre, l'inoculation de cristaux d'urate de sodium provoque une augmentation tardive de la pression intra-articulaire, cette fois prolongée et neutralisée que partiellement par la carboxypeptidase B.

Ces faits tendent à prouver que la bradykinine ne serait pas le seul médiateur.

II. - ROLE DES FACTEURS CELLULAIRES DANS L'INFLAMMATION

A) POLYNUCLEAIRES.

A côté des médiateurs chimiques, les cellules, en particulier les polynucléaires, jouent un rôle primordial dans l'inflammation (16, 49, 50, 105, 106). Ainsi, la phagocytose des cristaux d'urate de sodium et de pyrophosphate de calcium serait pour beaucoup d'auteurs responsable des phénomènes inflammatoires de l'accès aigu de goutte ou de pseudogoutte. D'ailleurs, la chute des leucocytes, induite chez le chien par injection de sérum antileucocytaire, entraîne la suppression de l'inflammation articulaire provoquée par l'inoculation de cristaux d'urate de sodium (151).

B) LYSOSOMES.

Pour WEISSMANN (148, 149), quelle que soit l'étiologie des différentes arthrites, l'inflammation locale se fait selon une voie finale commune. Les cellules de la cavité articulaire libèrent de façon intense leur contenu lysosomial (conséquence d'une attaque directe de ces cellules, ou d'une phagocytose exagérée). Ainsi les lysosomes présents dans les polynucléaires, dans les cellules de revêtement de la membrane synoviale, et les cellules du cartilage libèrent les divers constituants suivants qui agissent à différents stades de l'inflammation :

— une protéine cationique, phlogogène, qui agit probablement en favorisant la rupture des mastocytes (53).

— des protéases induisant la perméabilité vasculaire (93).

— des enzymes généralement actifs à pH acide.

Le rôle des précédents constituants peut s'expliquer de différentes façons (20, 65, 141) : d'une part, attaque directe du cartilage (cathepsine D.) (1) et d'autre part, production de substances de destruction favorisant à la fois l'activation du facteur XII (donc du système kininogène-kinine) et de nouvelles phagocytoses qui entretiennent l'inflammation.

C) PATHOGENIE DES ARTHRITES.

1) GOUTTE ET ARTHRITE MICROCRISTALLINE :

Deux mécanismes sont possibles : la phagocytose des cristaux par les polynucléaires qui libèrent leur contenu lysosomial (109), et l'activation du facteur XII par les cristaux.

2) AUTRES ARTHRITES :

Des réactions immunologiques semblent intervenir :

— **Dans l'arthrite rhumatoïde,** le mécanisme suivant est évoqué : au niveau du tissu hyperplasique synovial apparaissent des cellules fabriquant le facteur rhumatoïde. Celui-ci s'unit aux γ-globulines 7 S en donnant un complexe facilement phagocyté dans la cavité articulaire par les polynucléaires (ce complexe forme probablement les grains se trouvant à l'intérieur des ragocytes) (2, 47, 142). La phagocytose induit la dégranulation des cellules avec libération du contenu lysosomial dans le milieu extérieur et entretient de ce fait l'inflammation.

Ce phénomène de phagocytose explique l'abaissement important du taux de complément hémolytique dans le liquide synovial de polyarthrite rhumatoïde, par rapport au taux du liquide normal (conséquence d'une consommation du complément, in situ, lors de la phagocytose du complexe protéique). Il existe d'ailleurs une corrélation inverse et hautement significative entre le taux de complément et la teneur en ragocytes du liquide synovial (32, 43, 103).

— **Dans le lupus érythémateux disséminé,** des anticorps anti-noyau sont synthétisés (antiribonucléine), entraînant la formation d'un complexe antigène-anticorps facilement phagocyté dans la cavité articulaire (6).

III. - ROLE DES FACTEURS DE COAGULATION DANS L'INFLAMMATION (78)

A) LE FACTEUR XII DANS L'INFLAMMATION ARTICULAIRE MICROCRISTALLINE.

La coagulation endogène est une suite de réactions enzymatiques en cascade au cours desquelles l'enzyme formé dans une première réaction entraîne l'activation du proenzyme suivant. L'initiation est assurée par le contact avec une surface étrangère (23, 81, 83) [verre (10, 55, 77, 80, 130, 137) - substances inertes chargées négativement - acide ellagique in vitro, et brèche vasculaire in vivo (97)]. Cette surface transforme le facteur XII (facteur Hageman), inactif dans le plasma normal prélevé en matériel siliconé, en facteur XII activé (25, 40, 42, 112, 116).

En dehors de la coagulation, le facteur XII activé peut induire une série de réactions aboutissant à la libération de kinines et d'autres médiateurs biologiques. On sait, en outre, le rôle des cristaux d'urate de sodium et de pyrophosphate de calcium dans la génèse des réactions inflammatoires de la goutte et de la pseudogoutte (10, 31, 74, 75). Cette double observation a conduit KELLERMEYER, BRECKENRIDGE, EISEN, à l'hypothèse que le processus inflammatoire, dans la crise de goutte aiguë, est amorcé par l'activation du facteur Hageman en présence des cristaux d'urate de sodium. Pour étayer cette théorie, ces auteurs avec RATNOFF mettent en évidence les faits suivants :

1°) ACTIVATION DU FACTEUR XII :

Les cristaux d'urate de sodium, au même titre que le verre, activent le facteur XII (58). En effet, l'addition des cristaux d'urate de sodium à un plasma normal raccourcit le temps de recalcification de celui-ci. L'effet peut être attribué à l'activation du facteur XII, car l'adjonction de microcristaux à un plasma dépourvu de facteur Hageman (déficit congénital majeur) n'entraîne pas de variation du temps de recalcification de ce plasma. Par contre, la correction du temps de coagulation de ce même plasma déficitaire par le facteur Hageman purifié est améliorée en présence de la suspension de microcristaux.

2°) FACTEUR XII DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL :

La présence dans le liquide synovial normal d'une substance possédant les propriétés biologiques du facteur XII (59) est affirmée par le fait que l'addition de liquide synovial dilué au 1/10^{e} corrige le temps de recalcification d'un plasma de déficit en facteur XII. Cette correction est très accentuée en présence d'acide ellagique dont la caractéristique majeure est de n'activer que le facteur XII.

3°) FACTEUR XII ET AUGMENTATION DE LA PERMEABILITE VASCULAIRE :

KELLERMEYER et RATNOFF démontrent que l'augmentation de la perméabilité capillaire est liée au facteur XII (60).

En effet le facteur Hageman purifié augmente la perméabilité capillaire sur la peau de cobaye (113, 114) mesurée par la technique au bleu Evans (38). De plus, l'addition préalable de sérum spécifique anti-facteur XII abolit ce phéno-

mène. De même, l'antisérum inhibe le développement du facteur de perméabilité capillaire qui se forme lorsqu'un plasma dilué est mis en contact avec une surface de verre. Par contre, ce même antisérum reste sans effet s'il est ajouté après que le P.F. de MILES soit formé. Les effets de l'antisérum sont neutralisés par absorption avec un plasma normal humain. A la suite de ces expériences KELLERMEYER et RATNOFF concluent que le facteur XII paraît indispensable à l'activation du facteur de perméabilité de MILES.

Cependant cette hypothèse a été controversée par JOHNSTON et BARROW (54) qui prouvent que les fractions euglobuliniques issues du plasma normal ou du plasma de déficit en facteur XII se montrent également capables d'augmenter la perméabilité capillaire de la peau du lapin.

4°) CRISTAUX D'URATE DE SODIUM ET AUGMENTATION DE LA PERMEABILITE VASCULAIRE :

Enfin, pour conclure, ces auteurs démontrent dans le liquide synovial humain la présence d'une substance qui, mise en présence de cristaux d'urate de sodium, induit le développement du facteur de perméabilité capillaire comme en témoignent les expériences effectuées sur la peau d'un cobaye. Cette substance est assimilée au facteur Hageman. En effet, le même phénomène est empêché par l'addition au liquide synovial de sérum spécifique antifacteur XII.

Cette augmentation de perméabilité capillaire ne peut pas être totalement attribuée à la libération de kinines, car l'inhibition exercée par la carboxypeptidase n'est que partielle. De plus, l'activité physiologique demeure après dialyse, tandis que la totalité de la bradykinine, formée de polypeptides de 9 à 11 acides aminés, est éliminée par la dialyse.

B) **LE ROLE DES AUTRES FACTEURS DE COAGULATION.**

Soulignons le rôle important de la fibrine, terme de la coagulation qui peut se faire par voie endogène (prenant son point de départ dans l'activation du facteur Hageman) ou par voie exogène (sous la dépendance de la libération de thromboplastine tissulaire). La fibrine, en effet, envahit souvent les foyers inflammatoires (11) et sa présence dans une cavité articulaire stimule l'hyperplasie de la synoviale conduisant à l'inflammation chronique.

De plus, on reste nécessairement frappé par la similitude des réactions enzymatiques conduisant d'une part, à l'inflammation, et d'autre part, à la coagulation. En effet, ces deux processus sont déclenchés par l'introduction d'une substance ou par le contrat avec une surface étrangère, et le déroulement ultérieur des deux systèmes s'effectue par une suite de réactions enzymatiques qui s'induisent les unes les autres.

En conclusion,

L'ensemble des données précédentes cherchant à démontrer d'une part les rapports entre facteurs de coagulation et inflammation, et d'autre part le rôle des cellules et de leur contenu lysosomial libéré lors de la réaction inflammatoire, nous a conduit, dans les différents liquides synoviaux normaux et pathologiques, à l'étude :

1°) de l'hémostase,

2°) de la cytologie (détermination du nombre d'éléments, de la formule leucocytaire et de l'index ragocytaire).

3°) de l'activité enzymatique lysosomiale par l'évaluation du taux de phosphatase acide.

DEUXIÈME PARTIE

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. - ETUDE DE LA COAGULATION

A) MATERIEL :

1) PLASMA TEMOIN

Le sang est prélevé chez des donneurs normaux à la veine du pli du coude, et recueilli sur anticoagulant (citrate trisodique cristallisé à 5,5 molécules d'eau en solution à 3,8 g/100 ml : 1 partie de citrate pour 9 parties de sang). Le plasma déplaquettisé est obtenu par décantation du surnageant, après centrifugation pendant 20 minutes à + 4° C, à la vitesse de 6.000 tours/minute. Toutes les opérations sont effectuées avec du matériel siliconé.

2) PLASMAS DE SUJETS PRESENTANT UN DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEURS DE LA COAGULATION

Le taux du facteur déficitaire est inférieur à 1 %.

Nous avons utilisé des plasmas de déficits en facteurs :

XII ou facteur Hageman
XI ou facteur P.T.A.
IX ou facteur antihémophilique B
VIII ou facteur antihémophilique A
X ou facteur Stuart
VII ou proconvertine
V ou proaccélérine.

Les plasmas sont prélevés dans les mêmes conditions que le plasma normal et sont conservés congelés à -20° C en tubes neufs en plastique.

3) LIQUIDES SYNOVIAUX

Ils ont été prélevés par ponction articulaire franche du genou, par voie sous-rotulienne externe à l'aide d'une seringue siliconée puis recueillis en tubes siliconés en présence

de la solution de citrate trisodique à la concentration habituelle (3,8g %) à raison de 2 volumes de citrate pour 8 volumes de liquide synovial (ainsi la quantité d'anticoagulant ajoutée, double de celle utilisée pour le sang, tient elle compte du culot de centrifugation minime du liquide synovial, négligeable par rapport à l'importance de l'hématocrite). Les prélèvements sont ensuite centrifugés à 6.000 tours par minute pendant 20 minutes à +4° C. Tout liquide hémorragique a été écarté.

L'étude a porté sur les liquides synoviaux de sujets atteints :

— de polyarthrite rhumatoïde : 44 cas, 34 cas (sérologie positive), 10 cas (sérologie négative) ;

— d'arthrites microcristallines (goutteuse et pseudogoutteuse) : 12 cas ;

— d'arthrose : 8 cas.

Une série témoin de 18 liquides articulaires du genou fut aussi prélevée de la même façon sur sujets décédés depuis moins de 3 heures et indemnes de toute affection pathologique du genou même ancienne.

4) REACTIFS BIOLOGIQUES

— **Plasma humain dépourvu de facteur V :** par vieillissement à 37° C (98).

— **Plasma bovin dépourvu de facteurs VII et X :** par filtration sur amiante à 30 % (99).

— **Plasma citraté adsorbé par l'hydroxyde d'alumine** (ou plasma oxalaté adsorbé par le sulfate de baryum à raison de 1 g pour 100 ml de plasma). Les facteurs II, VII, X et IX sont retenus sur l'adsorbant et le plasma surnageant après centrifugation en est dépourvu (135).

— **Sérum normal** dépourvu de prothrombine provenant de sang recueilli sur thromboplastine tissulaire et incubé à 37° C pendant 4 heures (135).

— **Thromboplastine d'origine humaine :** extrait de cerveau, délipidé par l'acétone.

— **Céphaline** ou extrait chloroformique de thromboplastine humaine, préparée selon la technique de BELL et ALTON

(7). Elle est utilisée à la concentration optimale, préalablement déterminée, c'est-à-dire la concentration pour laquelle le réactif induit le raccourcissement le plus important du temps de recalcification du plasma normal pauvre en plaquettes.

— **Facteur V purifié** obtenu selon la méthode de BIGGS et DOUGLAS (8).

Cette préparation s'effectue en plusieurs stades à partir de plasma bovin (très riche en facteur V) adsorbé par le sulfate de baryum à raison de 100 mg par ml de plasma. Le fibrinogène et le facteur VIII sont tout d'abord éliminés par précipitation par le sulfate d'ammonium à la concentration finale de 33 % de saturation. Puis le facteur V est précipité, à son tour, par le sulfate d'ammonium à la concentration finale de 50 % de saturation. Le précipité ainsi obtenu est lavé à l'eau distillée puis remis en suspension dans le sérum physiologique tamponné à pH 7,35. La solution de facteur V, ainsi préparée, est dialysée contre du sérum physiologique tamponné afin d'éliminer le sulfate d'ammonium restant.

Différents contrôles ont été effectués :

— le taux de facteur V de la préparation est de 500 % par rapport à celui du plasma témoin normal.

— le contrôle de pureté a permis de vérifier :

  — l'absence de facteur VIII : le réactif dilué au 1/10^{e} ne raccourcit pas le temps de céphaline kaolin d'un plasma d'hémophile A.

  — l'absence d'activité thrombique : l'addition de 0,2 ml de réactif à 0,2 ml de solution de fibrinogène standard à 3 g °/°° n'entraîne pas de coagulation.

— **Facteur II ou prothrombine purifiée,** préparée par Mademoiselle MENACHE et Madame BENEMON Djiane au Centre National de Transfusion Sanguine (*).

La préparation est basée sur les propriétés physiques des différents facteurs, le principe en est le suivant (138, 147) : le plasma décalcifié adsorbé par la bentonite (silicate

(*) Nous remercions Mlle MENACHE et Mme BENEMON qui ont bien voulu nous procurer la prothrombine purifiée utilisée pour ce travail.

d'aluminium hydraté) ne renferme plus que la prothrombine et de faibles quantités de facteurs XI et XII. (Les autres facteurs de coagulation sont retenus par la bentonite dans le culot de centrifugation). La prothrombine est ensuite purifiée par adsorption élective sur phosphate tricalcique, suivie d'une élution par une solution de citrate de sodium 0,18 M. Après dialyse de la solution contre de l'eau distillée, la prothrombine est précipitée à son point isoélectrique (pH 5,1). Après redissolution dans du sérum physiologique, cette préparation est soumise à une deuxième purification par chromatographie sur D.E.A.E.-Sephadex.

Nous avons effectué les contrôles suivants :

1°) contrôle de pureté :

L'absence des autres facteurs de coagulation a été vérifiée : ce réactif n'entraîne pas de correction des temps de céphaline kaolin de plasmas de déficits congénitaux en facteurs XII, XI, VIII, X et V.

2°) dosage spécifique du facteur II par rapport au plasma normal :

Le réactif est 10 fois plus riche en prothrombine que le plasma témoin de référence. Il est utilisé dilué au $1/10^e$, c'est-à-dire, à une concentration équivalente à celle du plasma normal.

— **Fibrinogène :**

— Le fibrinogène bovin (Poviet), en solution à 6 pour mille dans le tampon phosphate à pH 7,6 a été réservé à l'étude de la fibrinolyse.

— Le fibrinogène humain (Kabi), en solution à 4 pour 1.000 dans l'eau distillée ou à 3 pour 1.000 dans le sérum physiologique tamponné, a été réservé pour la recherche d'une activité thrombique d'une part, et de la prothrombinase d'autre part.

— **Réactif Hageman** (131)

Il contient le facteur XII. Les autres facteurs de coagulation sont présents à l'état de traces.

Les facteurs XII et XI étant difficilement séparables, le réactif Hageman est préparé à partir d'un sérum provenant d'un sujet atteint de déficit congénital majeur en PTA. Ce sérum est privé des facteurs IX, X, VII et II par adsorption sur

phosphate tricalcique (5 mg/ml de sérum). Après centrifugation, le surnageant est chauffé à 56° C pendant 20 minutes, afin de détruire les faibles quantités de facteurs V et VIII. Ce réactif est à nouveau centrifugé à grande vitesse.

Différents contrôles ont été effectués :

— le taux de facteur XII dans le réactif est voisin de celui du plasma normal de référence : 70 à 100 %.

— les autres facteurs sont absents ou à l'état de traces non détectées biologiquement, c'est-à-dire, que le réactif dilué au 1/10e dans le tampon d'OWREN-KOLLER ne corrige pas le temps de céphaline kaolin de plasmas dépourvus de facteurs XI, IX, VIII, X et V **(Tableau I) :**

En présence	Temps de céphaline-kaolin (en secondes) de plasma de déficit en facteurs :					
	XI	IX	VIII	X	V	XII
de tampon	120	460	300	280	270	560
de Réactif Hageman	120	440	290	280	275	90

TABLEAU I - REACTIF HAGEMAN : ABSENCE DE FACTEURS XI, IX, VIII, X, V DANS CE REACTIF ET PRESENCE DE FACTEUR XII.

— **Sérum de lapin anti-facteur XII** (131, 132) préparé par RATNOFF et DAVIE (*).

Il est obtenu par hyperimmunisation du lapin, provoquée par des injections répétées de facteur XII purifié en présence de l'adjuvant de FREUND. Le facteur XII utilisé pour cette immunisation a été préparé selon la méthode proposée par RATNOFF et DAVIE (111) ; celle-ci nécessite la mise en œuvre de purifications successives que nous rappelons brièvement :

— adsorption des facteurs IX, X, VII et II sur gel d'hydroxyde d'alumine et du facteur XI sur poudre de diatomées.

— fixation du facteur XII sur la carboxymethylcellulose, suivie d'élution dans des conditions bien précises.

(*) Nous remercions le Prof. RATNOFF (Westerns University, Cleveland Ohio) qui nous a procuré l'anti-sérum utilisé pour ce travail.

— le facteur XII ainsi dissous est précipité par relargage au sulfate d'ammonium. Il doit être encore purifié par deux chromatographies successives pour obtenir la protéine à l'état pur : la première est effectuée sur colonne de diethyl-aminoethyl cellulose (DEAE cellulose), la deuxième sur colonne de carboxymethyl cellulose.

Avant l'utilisation, l'antisérum est privé de facteur XII par adsorption de celui-ci sur kaolin (100 mg/ml) suivie d'une incubation à 37° C pendant 5 heures, puis à 56° C pendant 30 minutes.

— **Sérum normal de lapin privé de facteur XII :**

Le sang total obtenu par ponction artérielle est incubé à 37° C pendant 4 heures. Le sérum recueilli après centrifugation a été traité de la même manière que l'antisérum (c'est-à-dire, élimination du facteur XII par adsorption sur kaolin, suivie d'une incubation à 37° C puis à 56° C).

— **Streptokinase** (Choay) : solution en tampon phosphate (200 unités/ml).

— **Urokinase** (Leo-Pharmaceutical Company, Copenhague, Danemark), solution en tampon phosphate (20 unités/ml).

— **Thrombine** (Roche) utilisée à différentes concentrations (dilution en tampon approprié).

5) REACTIFS NON BIOLOGIQUES.

— **Solutions tampons :**

— Tampon type Michaelis, selon OWREN-KOLLER, pH 7,35 (90).

— Tampon phosphate 0,05 M - pH 7,8.

— **Chlorure de calcium,** solution 0,025 M.

— **Gel d'hydroxyde d'alumine** à 20 % dans l'eau distillée.

— **Kaolin** (Prolabo) utilisé sous forme de suspension à 5 mg/ml en tampon véronal d'OWREN-KOLLER.

— **Solution d'acide ellagique** 5.10-3 M en tampon véronal.

— **Urate de sodium** utilisé en suspension en tampon véronal (20 mg/ml).

L'urate de sodium sous forme de sel cristallisé est obtenu au laboratoire par précipitation lente à partir d'une solution peu concentrée d'urate de sodium soumise à un refroidissement progressif (126). Le contrôle de la préparation est effectué par observation microscopique du précipité obtenu, placé entre lame et lamelle : les cristaux se présentent sous forme d'aiguilles de 1 à 4 μ de longueur et 0,3 μ de largeur. L'aspect est tout à fait identique à celui des cristaux d'urate de sodium retrouvés dans le liquide synovial provenant de sujets en cours de crise de goutte aiguë.

L'urate de sodium sous forme amorphe provient de la précipitation rapide du sel à partir d'une solution très concentrée portée à l'ébullition et soumise à un refroidissement brutal. L'absence de cristaux dans ce produit est vérifiée par contrôle microscopique.

B) **METHODES :**

1) ACTIVITE THROMBIQUE.

Elle est recherchée en ajoutant au liquide à étudier un volume égal de solution de fibrinogène humain à 3 g/ 1000 ml ou de plasma humain citraté adsorbé par l'hydroxyde d'alumine.

2) TEMPS DE THROMBINE effectué selon la technique classique (9).

3) ANTITHROMBINE PROGRESSIVE OU ANTITHROMBINE III.

La mesure est effectuée selon la technique d'ASTRUP et DARLING (4) modifiée. L'antithrombine III entraîne la neutralisation progressive de la thrombine. L'activité du liquide synovial a été étudiée comparativement à celle du plasma normal sur un prélèvement défibriné par chauffage à 56° C pendant 3 minutes, suivi d'une centrifugation à 6.000 tours/ minute pendant 10 minutes. Le précipité contenant le fibrinogène est écarté, le surnageant décanté est conservé. (Cette opération est nécessaire pour éviter l'intervention du fibrinogène, antithrombine immédiate, dans la mesure). Le plasma d'une part, et le liquide d'autre part, ainsi traités sont dilués

au 1/5e en tampon véronal d'OWREN-KOLLER puis mis en présence d'un volume égal de solution de thrombine à 15 unités/ml. L'activité de la thrombine restant dans le mélange est appréciée régulièrement (au bout de 1-5-10 et 15 minutes) en mesurant le temps de coagulation d'une solution de fibrinogène (0,2 ml de solution de fibrinogène humain à 3 g/litre) en présence d'une partie aliquote de la mixture (0,1 ml). La neutralisation de la thrombine par l'antithrombine se traduit par un allongement progressif des temps de coagulation ainsi déterminés. Les résultats sont exprimés en temps de coagulation en présence du liquide synovial d'une part, et en présence du plasma de référence d'autre part.

4) DOSAGE DU FIBRINOGENE.

La détermination a été effectuée par la méthode pondérale (38).

5) DOSAGE DES ELEMENTS DIFFERENTIELS DU COMPLEXE PROTHROMBINIQUE.

On étudie la correction du temps de coagulation, en présence de thromboplastine tissulaire, d'un réactif artificiel contenant tous les facteurs de la thromboplastinoformation extrinsèque à l'exception de celui que l'on veut doser, par une dilution optimale du liquide ou du plasma témoin. Le principe est le même pour les différents facteurs, seule la préparation du réactif varie. On pratique ainsi les dosages :

— du facteur V ou proaccélérine selon la technique décrite par OWREN (98) ;

— du facteur II selon la technique de SOULIER et LARRIEU (135) ;

— des facteurs VII et X selon la technique d'OWREN (99).

Le dosage du facteur VII ou X a été effectué par une technique identique en utilisant comme substrat un plasma de déficit congénital en facteur VII ou X contenant moins de 1 % du facteur étudié.

6) ETUDE DE LA GENERATION DE LA THROMBOPLASTINE ENDOGENE, selon le test de HICKS et PITNEY (44).

7) TEMPS DE CEPHALINE

C'est le temps de recalcification d'un plasma pauvre en plaquettes en présence de céphaline (66, 67). La mesure

a été effectuée en tubes de verre siliconé ou non siliconé, en l'absence ou en présence de kaolin (63) (suspension à 5 mg/ml en tampon d'OWREN-KOLLER).

8) DOSAGE DES FACTEURS VIII, IX, XII, XI, X et V.

Le dosage des facteurs antihémophiliques A et B a été effectué par une méthode en un temps, d'après SOULIER et LARRIEU, modifiée par addition de kaolin (suspension à 5 mg/ml en tampon d'OWREN-KOLLER) (87' 136).

La même méthode a été appliquée au dosage des facteurs XII, XI, X et V en utilisant des plasmas de déficits congénitaux graves, contenant moins de 1 % du facteur en cause. On étudie la correction du temps de recalcification plasmatique d'un plasma dépourvu en facteur XII, XI, IX, VIII, X ou V par différentes dilutions du plasma témoin ou du liquide à étudier en présence de kaolin et de céphaline.

Les résultats exprimés en pourcentage par rapport à un plasma normal sont déduits de la courbe d'étalonnage effectuée sur papier bilogarithmique **(Figure 1).**

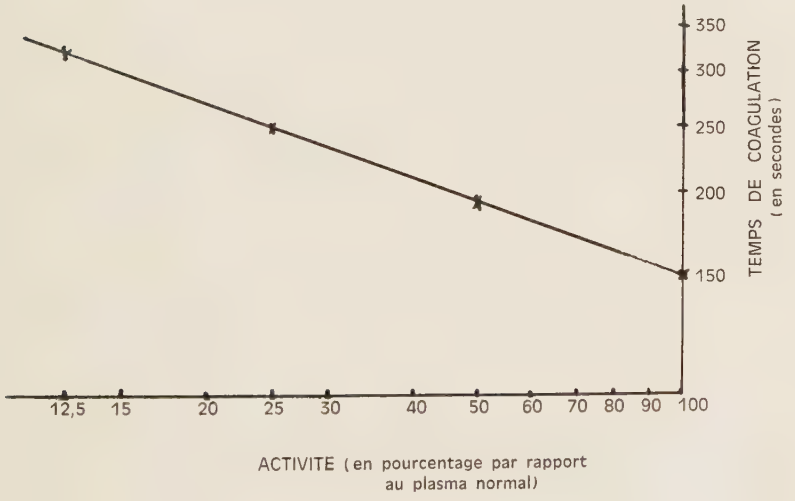


FIGURE 1. - DOSAGE DU FACTEUR XII, COURBE D'ETALONNAGE

(Dans la majorité des cas, la dilution au 1/40e du plasma normal est considérée arbitrairement comme le 100 %).

9) METHODES D'ETUDE DU SYSTEME FIBRINOLYTIQUE.

L'activité fibrinolytique globale du liquide synovial frais a été appréciée sur plaques de fibrine selon la méthode d'ASTRUP (3), utilisant du fibrinogène bovin en solution à 6 g p. 1.000 en tampon phosphate. Ces plaques, insensibles à la streptokinase, permettent la mise en évidence des activateurs (du fait du contenu en plasminogène du fibrinogène bovin), et de la plasmine.

L'activité de la plasmine libre a été appréciée sur plaques chauffées à 80° C selon la méthode de LASSEN (68).

Les résultats sont exprimés en millimètres carrés : surface arbitrairement obtenue en faisant le produit des deux diamètres perpendiculaires de la zone lysée.

De plus, la préincubation à la température de la pièce du liquide avec un volume égal de solution de streptokinase à 200 unités/ml permet la mesure du proactivateur de la lyse transformé ainsi en activateur.

La mesure de l'inhibiteur antiurokinase a été effectuée par comparaison des surfaces lysées après incubation d'une solution d'urokinase à 2 unités/ml en présence de tampon d'une part ou du liquide à tester d'autre part.

10) PROTHROMBINASE DANS LES LIQUIDES.

a) Elle a été recherchée en appréciant l'action des différents liquides synoviaux sur la prothrombine purifiée, en présence de fibrinogène humain et de calcium ionisé utilisé à la concentration optimale. Nous avons adopté le protocole ainsi résumé :

Réactifs	**Volume** (ml)
— Fibrinogène humain à 4 p. 1000 adsorbé par l'hydroxyde d'alumine	0,1
— Prothrombine purifiée diluée au 1/10e	0,1
— Liquide à étudier	0,1
— Tampon de Michaelis	0,1
— Chlorure de calcium	0,1

b) Puis, la formation de prothrombinase a été étudiée dans le même système en présence :

● de facteur V purifié : 0,05 ml de facteur V dilué de façon à obtenir une concentration équivalente à celle du plasma normal dans le réactif.

● de facteur V purifié utilisé dans les mêmes conditions, en présence de céphaline diluée au 1/200e (0,05 ml).

L'activité de la prothrombinase des liquides a été comparée à l'activité de la thromboplastine tissulaire et du facteur X activé.

Remarque sur l'obtention du facteur X activé : Nous avons personnellement mis à profit le fait suivant : L'addition d'une trace de thromboplastine tissulaire à un plasma de déficit congénital en proaccélérine permet d'obtenir l'équivalent du facteur X activé, puisque en l'absence du facteur V, la génération de prothrombinase est bloquée à ce stade.

11) ETUDE SPECIFIQUE DE L'ACTIVITE DU FACTEUR HAGEMAN PAR UTILISATION DU SERUM SPECIFIQUE ANTI-FACTEUR XII.

La mesure du taux de facteur XII dans les liquides synoviaux a été effectuée, nous l'avons vu, par l'étude de la correction variable par les liquides dilués du temps de coagulation, en présence de céphaline et de kaolin, d'un plasma de déficit congénital majeur en ce facteur. Si cette correction est dûe à l'apport spécifique de facteur XII, elle doit être inhibée par l'incubation préalable du liquide avec le sérum spécifique anti-Hageman. Parallèlement, un contrôle est établi par incubation du liquide examiné en présence d'un sérum normal de lapin non immunisé et dépourvu de facteur XII.

Avant toute expérience, nous avons tenu à mettre en œuvre les tests préalables suivants permettant de fixer les conditions opératoires définitives :

a) *Etude de l'activité de l'antisérum :*

Les propriétés de neutralisation spécifique du facteur XII par cet antisérum sont testées sur le « réactif Hageman ».

Le réactif Hageman dilué au 1/4 dans le tampon véronal est mis en contact avec un volume égal :

— soit d'antisérum dépourvu de facteur XII ;

— soit de sérum normal de lapin dépourvu de facteur XII (contrôle) ;

— soit de tampon.

Après une incubation de 1 heure à 37° C et de 18 heures à +4° C, le taux de facteur XII est mesuré dans les différentes mixtures. Il est exprimé en pourcentage par rapport au plasma témoin de référence **(Tableau II)**.

MIXTURES TESTEES		Temps de cephaline-kaolin d'un plasma de déficit en facteur XII (en sec.)	Pourcentage de facteur XII **
1 Plasma témoin contrôlé dilué au 1/4 + tampon	Vol. égal	183	100
2 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Sérum anti-Hageman	Vol. égal	510	<5
3 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Sérum normal de lapin	Vol. égal	210	70
4 Réactif Hageman dilué au 1/4 + tampon	Vol. égal	206	76
5 Tampon		540	—

(**) L'activité du facteur XII est testée dans les mixtures incubées après dilution au 1/10e en tampon D'OWREN-KOLLER. Le calcul du pourcentage tient compte de la dilution finale du plasma, ou du réactif Hageman (dilution au 1/80e).

TABLEAU II - NEUTRALISATION DU FACTEUR XII PAR L'ANTISERUM SPECIFIQUE.

b) *Choix de la dilution de l'antisérum à utiliser.*

L'antisérum dilué au 1/4 en tampon d'OWREN-KOLLER ne neutralise pas la totalité du facteur XII présent dans le réactif Hageman dilué lui-même au 1/4. Par contre, l'antisérum utilisé dilué au 1/2 ou non dilué neutralise parfaitement la totalité du facteur XII du réactif employé dans les mêmes conditions **(Tableau III)**. Nous utiliserons donc l'antisérum pur pour les expériences utilisées au cours de ce travail.

MIXTURES TESTEES		Temps de cephaline-kaolin d'un plasma de déficit en facteur XII ** (en secondes)
1 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Antisérum dilué au 1/4	Vol. égal	330
2 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Antisérum dilué au 1/2	Vol. égal	510
3 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Antisérum non dilué	Vol. égal	510
4 Réactif Hageman dilué au 1/4 + Tampon	Vol. égal	206
5 Tampon		510

(**) En présence de 0,1 ml de la mixture diluée au $1/10^{e}$ en tampon d'OWREN-KOLLER.

TABLEAU III - CHOIX DE LA DILUTION DE L'ANTISERUM A UTILISER

c) *En résumé,*

Ces résultats prouvent l'activité spécifique du sérum anti-facteur XII qui neutralise totalement le facteur XII du réactif Hageman, tandis que l'addition de sérum normal de lapin à ce réactif reste sans effet.

II - ETUDE ENZYMATIQUE

A) MATERIEL

— **Tampon Tris** (trihydroxymethyl aminométhane) pH 7,5 (Tris 0,06 M/ClNa 0,07M).

— **Solution de BAME** (ester méthylique de la benzoyl arginine) (Sigma 0,01 M ou 0,02 M en tampon Tris. La dissolution est effectuée extemporanément.

— **Thrombine** (Roche) solutions à 25 ou 50 unités internationales par ml de tampon Tris.

— **Solutions tampons :**

  — Tampon citrate pH 5 d'après SORENSEN (133, 134).

  — Tampon carbonate/bicarbonate pH 10 (22, 36).

— **Soude** 0,5 N.

— **Phenylphosphate de sodium,** cristallisé avec 2 molécules d'eau : solution extemporanée dans l'eau bidistillée à raison de 254 mg/100 ml.

— **Aminoantipyrine** (Serlabo), solution à 0,60 g/100 ml d'eau distillée.

— **Solution :** — ferricyanure de potassium 9,6 g
— bicarbonate de sodium anhydre 24 g
— eau distillée q.s.p. 1000 ml.

— **Solution de phenol synthétique pur** à 40 μ g/ml dans l'eau distillée ; obtenue par dilution extemporanée de la solution à 1 mg/ml dans l'acide chlorhydrique 0,1 N.

B) **METHODES**

1) ACTIVITE ESTERASIQUE EFFECTUEE SUR BAME

La détermination est effectuée en étudiant la variation cinétique de la densité optique à 254 m μ d'une solution de BAME en présence du liquide à tester (car l'hydrolyse du BAME en benzoyl arginine se traduit par l'augmentation de la densité optique à cette longueur d'onde).

On pratique parallèlement des contrôles enzymatiques avec la thrombine (25 et 50 unités/ml), cet enzyme ayant une action estérasique sur le BAME (125) **(Tableau IV).**

Réactifs volume exprimé en ml	Blanc	CONTROLE avec les solutions de thrombine		REACTION en présence du liquide à étudier
Tampon Tris	3,3	3,20	3,20	3,20
Solution B.A.M.E. 0,01M	0,05	0,05	0,05	0,05
Solution de Thrombine				
25 u/ml	—	0,1	—	—
50 u/ml	—	—	0,1	—
Liquides à étudier	—	—	—	0,1

TABLEAU IV - ACTIVITE ESTERASIQUE SUR L'ESTER METHYLIQUE DE LA BENZOYL ARGININE

2) ACTIVITES PHOSPHATASIQUES ACIDE ET ALCACINE selon la technique de KIND et KING (61, 62)

On étudie la libération de phénol à partir du phenyl phosphate de sodium, dans des conditions bien déterminées de pH (5 pour la phosphatase acide, 10 pour la phosphatase alcaline), de température (37° C), de concentration, de temps (15 minutes pour la phosphatase acide, 60 minutes pour la phosphatase alcaline).

Une unité K correspond à la libération de 10 μ g de phenol par ml et dans les conditions précisées.

III - ETUDE CYTOLOGIQUE

1) NUMERATION DES ELEMENTS

Elle a été effectuée après dilution au 1/10^{e} en sérum physiologique (les solutions d'acide acétique à 1 % servant pour la numération des globules blancs sanguins sont inutilisables, car l'acide entraîne la précipitation de la mucine constituant essentiel du liquide synovial).

2) FORMULE LEUCOCYTAIRE :

Elle a été faite par examen d'un frottis coloré selon la méthode de MAY-GRUNWALD-GIEMSA.

3) RECHERCHE DES RAGOCYTES OU R.A. CELLS (Rhumatoids arthritis cells) (21, 115).

Ces cellules présentent au niveau du cytoplasme des inclusions particulières en nombre variable. La nature de ces inclusions fait l'objet d'études ; elle paraît être un complexe « antigène-anticorps » phagocyté par ces cellules.

Leur recherche s'effectue sur liquide frais, par observation directe du liquide, placé entre lame et lamelle, au microscope à contraste de phase. On observe ainsi très facilement les inclusions de 0,5 à 1 μ qui apparaissent de couleur verdâtre ou noirâtre.

IV - ÉTUDE SÉROLOGIQUE

La recherche du facteur rhumatoïde, gamma M globuline, est effectuée par deux réactions courantes (30, 52, 108), basées sur le fait que le facteur rhumatoïde possède les propriétés d'un anticorps antigamma globuline.

1) TEST AU LATEX.

Le facteur rhumatoïde est capable de précipiter les gamma globulines et de ce fait, susceptible d'agglutiner les particules inertes sur lesquelles sont fixées des gamma-globulines.

2) REACTION DE WAALER-ROSE.

Elle met en présence le sérum du malade et une suspension de globules rouges de mouton sensibilisés par un sérum anti globules rouges de mouton, ou une suspension de globules rouges humains O rhésus négatif sensibilisés par un sérum anti globules rouges humains. La réaction est considérée comme douteuse quand le sérum dilué au 1/16^{e} est encore capable d'agglutiner les hématies, et positive quand l'agglutination persiste avec le sérum dilué au 1/32^{e}.

TROISIEME PARTIE

ETUDE BIOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX ET PATHOLOGIQUES

CHAPITRE I

ÉTUDE DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL

Le liquide synovial normal est secrété par la membrane synoviale. Il assure la lubrification et la trophicité des surfaces articulaires. Classiquement, on admet qu'il est constitué par un dialysat de sérum avec absence de certaines protéines de haut poids moléculaire ou de structure asymétrique. De plus, il est riche en acide hyaluronique, mucopolysaccharide acide, composant essentiel de la mucine, inexistant dans le sang et synthétisé au niveau de la membrane synoviale (15).

CARACTERES PHYSIQUES DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX

Il s'agit de liquides transparents, très légèrement teintés. Le volume recueilli est variable suivant les sujets et l'articulation (1 à 2 ml quand l'articulation ponctionnée est le genou).

— **La viscosité** est élevée. Elle est en relation directe avec la quantité d'acide hyaluronique, molécule de grande

taille, qui confère au liquide synovial ses propriétés particulières de lubrification et de filtre au niveau de la matrice intercellulaire. La viscosité relative a été mesurée à 25° C par ROBINSON et SMYTH : elle est en moyenne de 235.

— **Etude de la mucine.** Parallèlement, une étude très simple de la mucine a été effectuée. En ajoutant au liquide synovial de l'acide acétique dans des conditions déterminées, la mucine précipite sous forme de masse gélatineuse, homogène.

ETUDE CYTOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX

Les liquides synoviaux normaux sont très pauvres en éléments figurés. Pour 7 liquides étudiés, le chiffre a toujours été inférieur à 150 cellules par millimètre cube (mm3) ce qui confirme les résultats de COGGESHALL et coll. (17) qui dénombrent 13 à 180 cellules par mm3 avec une moyenne de 63 éléments/mm3. Ces éléments sont constitués par 63 % de cellules phagocytaires mononuclées, 25 % de lymphocytes, 7 % de polynucléaires, 3 % de cellules synoviales et 2 % de cellules indéterminées. L'examen de la formule leucocytaire montre clairement que la fonction essentielle du liquide synovial est phagocytaire. Il faut souligner que le pourcentage des polynucléaires est constamment inférieur à 25 %. Les ragocytes ont constamment été absents dans les liquides étudiés.

ETUDE CHIMIQUE ET ENZYMOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX

— **Taux de protéine :** Il est très inférieur à celui du plasma. En effet, la concentration moyenne est de 13,6 g par litre. L'absence de protéines à haut poids moléculaire est notée.

— **Taux de complément** (déterminé par PEKIN et ZVAILER) (101) : Il est faible, puisque le taux moyen dans le liquide synovial normal est de 4 unités/ml tandis que le taux dans le sérum normal est de 40 unités/ml.

— **Phosphatases acide et alcaline :** Comme il est indiqué au **Tableau I,** l'activité de ces enzymes s'est constamment avérée peu importante.

PHOSPHATASE ACIDE en unités/100 ml		PHOSPHATASE ALCALINE en unités/100 ml	
Moyenne *	Variations extrêmes	Moyenne *	Variations extrêmes
2,8	1 - 4	2	1 - 4

(*)Moyenne des activités déterminées sur 5 prélèvements différents.

TABLEAU I - PHOSPHATASE ACIDE, ET PHOSPHATASE ALCALINE DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL.

ETUDE DES FACTEURS DE COAGULATION

Nous avons effectué une étude des différentes étapes de la coagulation sur un certain nombre de liquides variant selon les cas entre 4 et 18.

I) ACTIVITE THROMBIQUE ET ANTITHROMBINE IMMEDIATE.

D'une part, l'addition du liquide synovial normal à un plasma humain adsorbé par l'hydroxyde d'alumine, source de fibrinogène, ou à du fibrinogène purifié n'entraîne aucune coagulation. Le liquide synovial est donc dépourvu d'activité thrombique.

D'autre part, comme il apparaît sur le **Tableau II,** l'addition de liquide synovial à du plasma normal déplaquettisé n'entraîne pas de variation significative du temps de thrombine par rapport au contrôle (liquide synovial remplacé par la solution tampon d'OWREN-KOLLER). Cette expérience permet d'affirmer l'absence d'antithrombine immédiate dans le prélèvement.

MATERIEL	TAMPON	LIQUIDE SYNOVIAL *	
		VALEUR MOYENNE	VARIATIONS EXTREMES
Temps de coagulation en secondes	23,5	24	22,5 - 26

(*) Dilution au 1/5e.

TABLEAU II - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LE TEMPS DE THROMBINE D'UN PLASMA TEMOIN.

II) RECHERCHE DU FIBRINOGENE

L'addition de thrombine, même à forte concentration, n'entraîne pas de coagulation du liquide synovial normal, ce qui témoigne de l'absence de fibrinogène.

III) FACTEURS DU COMPLEXE PROTHROMBINIQUE (II, V, VII et X).

Cette étude a été effectuée selon deux modalités différentes :

A) DOSAGE SPECIFIQUE DES FACTEURS II, V, VII ET X EN PRESENCE DE THROMBOPLASTINE TISSULAIRE.

Les résultats obtenus, consignés dans le **tableau III,** montrent que le liquide synovial normal paraît dépourvu de facteur V ou proaccélérine, les autres facteurs sont présents à des concentrations très faibles.

FACTEURS ETUDIES	TEMPS DE COAGULATION (en sec.) EN PRESENCE DE			Taux en pourcentage par rapport au plasma normal	
	Liquide synovial *		Tampon	Moyenne	Variations extrêmes
	Moyenne **	Variations extrêmes			
Facteur V	120	115 - 125	120	0	0
Facteur X	65	50 - 100	103	4	traces - 8,5
Facteurs VII + X	160	95 - 290	300	3	traces - 8,5
Facteur II	45	39 - 51	80	5,2	3 - 7

(*) Liquide synovial dilué au 1/10e.
(**) Moyenne de 12 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU III - DOSAGE DES FACTEURS II, V, VII ET X DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL

B) TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL EN FACTEUR V OU X, EN PRESENCE DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL.

Les résultats sont résumés dans le **tableau IV.** Ils sont en concordance avec ceux donnés par la méthode en présence de thromboplastine tissulaire.

SUBSTRAT PLASMA DE :	TEMPS DE COAGULATION (en minutes) en présence de :			
	Plasma normal *	Liquide synovial ** Valeur moyenne	Liquide synovial ** Variations extrêmes	Tampon
Déficit en facteur X	5,30	11	9 -12	12,15
Déficit en facteur V	5	14	13,30-14,30	14,30
Déficit en facteur V en présence de kaolin	1,10	4,35	4,25- 4,40	4,35

(*) Plasma dilué au 1/5e.

(**) Liquide synovial dilué au 1/5 (dilution nécessaire pour diminuer la viscosité).

TABLEAU IV - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEUR V OU X EN TUBES SILICONES

L'apport de kaolin dans un même système, entraînant une activation standard des facteurs de la thromboplastinoformation endogène, ne modifie pas les résultats.

En outre, les taux de facteur V ou X dans un liquide, déduits de la correction variable du temps de céphaline kaolin des plasmas de déficit en ces facteurs par le liquide dilué au 1/40e, sont identiques aux taux déterminés dans le même prélèvement par la méthode en présence de thromboplastine tissulaire **(Tableau V).**

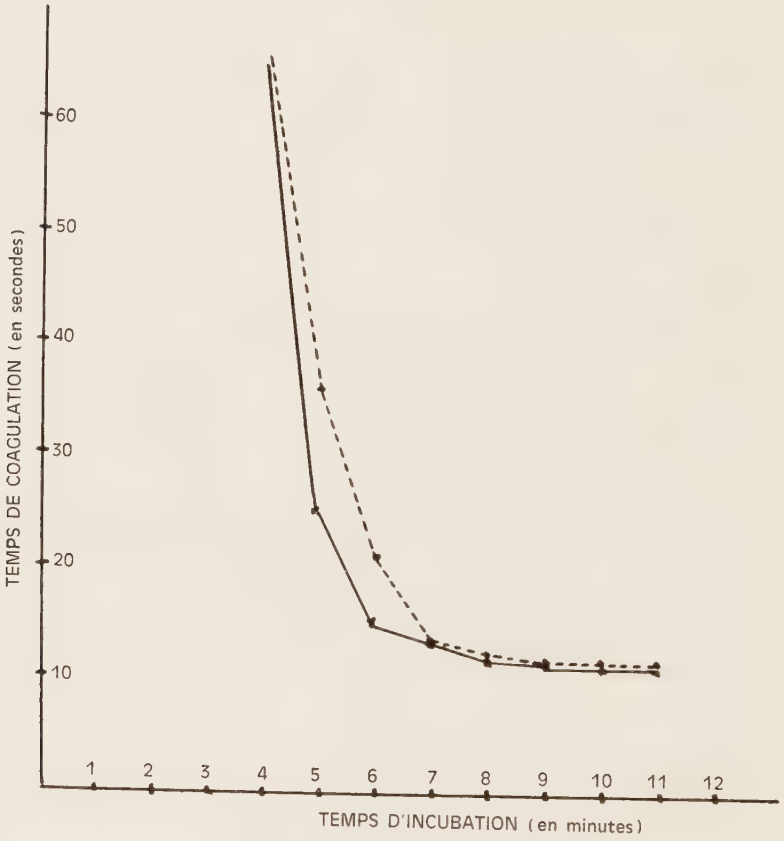
METHODE	TAUX DE FACTEUR V (en pourcentage par rapport au plasma normal)	TAUX DE FACTEUR X (en pourcentage par rapport au plasma normal)
en présence de thromboplastine	0	8,5
en présence de céphaline et de kaolin	0	8,6

TABLEAU V - COMPARAISON ENTRE LE TAUX DE FACTEUR V OU X DETERMINE PAR DEUX METHODES DIFFERENTES DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL

IV) FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE.

A) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE GLOBALE D'UN PLASMA TEMOIN.

Comme il apparaît sur la **figure 1,** l'addition du liquide synovial à une mixture de génération de la thromboplastine endogène d'un plasma témoin (test de HICKS et PITNEY) n'entraîne pas d'accélération de la formation de la prothrombinase ni d'augmentation réelle de l'activité de celle-ci.



courbe x———x Mixture d'incubation en présence du liquide synovial dilué au 1/10e (1 volume pour 9 volumes)

courbe - - - - - - - - - Mixture d'incubation en présence de tampon (1 volume pour 9 volumes).

FIGURE 1 - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE GLOBALE D'UN PLASMA TEMOIN SELON LE TEST DE HICKS ET PITNEY

B) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LA COAGULATION DES PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEUR XII, IX OU VIII.

1°) ACTION SUR LE TEMPS DE CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES.

L'addition du liquide synovial normal entraîne un raccourcissement du temps de céphaline du plasma de déficit en facteur XII, d'importance variable en fonction des liquides testés. L'action sur les plasmas de déficit en facteurs IX et VIII est moins constante. Elle paraît n'exister que lorsque l'effet sur le plasma de déficit en facteur XII est évident et pourrait être en rapport avec cette action. **(Tableau VI).**

SUBSTRAT	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) EN PRESENCE DE :			
	Liquide synovial *		Plasma témoin	Tampon
	Moyenne **	Variations extrêmes		
Plasma de déficit en facteur XII	320	270- 400	255	660
Plasma de déficit en facteur IX	980	450-1200	330	> 1200
Plasma de déficit en facteur VIII	890	540-1080	390	1320

(*) Dilution au 1/5e en tampon d'OWREN-KOLLER.
(**) Moyenne effectuée sur 8 liquides différents.

TABLEAU VI - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LE TEMPS DE CEPHALINE, (EFFECTUE EN TUBES SILICONES), DES PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEURS XII, IX ET VIII.

2°) DOSAGES DES FACTEURS XII, IX ET VIII PAR UNE METHODE EN UN TEMPS DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL.

Les résultats obtenus par une méthode spécifique en un temps (136) en présence de céphaline et de kaolin confirment ces données. En effet, comme le montrent les résultats exposés au **tableau VII,** le liquide synovial contient de faibles quantités ou des traces seulement de facteur IX ou VIII et une concentration plus élevée et variable de facteur XII.

	TAUX DES FACTEURS XII, IX et VIII en pourcentage par rapport au plasma normal	
	VALEUR MOYENNE	VARIATIONS EXTREMES
FACTEUR VIII *	3	0 - 6
FACTEUR IX *	2,6	0 - 7,5
FACTEUR XII **	22	7 - 45

(*) 6 liquides examinés.
(**) 15 liquides testés.

TABLEAU VII - DOSAGE DES FACTEURS VIII, IX ET XII DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL.

3°) ETUDE DE LA CORRECTION DU TEMPS DE COAGULATION D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL.

La correction du temps de coagulation d'un plasma de déficit en facteur Hageman par les liquides synoviaux normaux paraît bien dûe à la présence du facteur XII, car cette correction est supérieure en présence d'acide ellagique utilisé à la concentration finale de 10-3 M. **(Tableau VIII)**. Cet élément selon RATNOFF (110) confirme la présence du facteur Hageman, seule protéine de la coagulation susceptible d'être activée par l'acide ellagique. Le même effet est obtenu en remplaçant l'acide ellagique par du kaolin à la concentration finale de 1 mg/ml.

Matériel ajouté	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DE :		
	TAMPON	ACIDE ELLAGIQUE 10-3 M	KAOLIN 1 mg/ml
LIQUIDE SYNOVIAL (dilué au 1/5e)	320	110	110
PLASMA NORMAL (dilué au 1/5e)	290	70	70
TAMPON	480	400	400

TABLEAU VIII - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL SUR LE TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DE TAMPON, D'ACIDE ELLAGIQUE OU DE KAOLIN

Cette expérience peut être reproduite en présence de dilutions plus élevées du liquide synovial, comme le montrent les résultats du **tableau IX :**

MATERIEL AJOUTE	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DE			
	TAMPON		KAOLIN	
	Valeur Moyenne *	Variations extrêmes	Valeur Moyenne *	Variations extrêmes
Liquide synovial dilué au 1/40e	350	330 - 390	214	182 - 250
Plasma normal dilué au 1/40e	350	330 - 390	145	134 - 150

(*) Moyenne de 10 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

TABLEAU IX - EFFET DU KAOLIN SUR LA CORRECTION DU TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL DILUE.

4°) ROLE DU CHAUFFAGE ET DE L'ADSORPTION DU LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL PAR DIFFERENTES SUBSTANCES.

Le facteur Hageman, selon RATNOFF, est thermostable à 56° C pendant 30 minutes et est partiellement adsorbable sur les adsorbants usuels (sulfate de baryum, hydroxyde d'alumine).

Les résultats rapportés dans le **tableau X** font apparaître les résultats suivants :

Le chauffage à 56° C du liquide synovial entraîne :

— la disparition totale du facteur VIII,

— une diminution discrète du facteur XII : il demeure en effet une activité égale à 70 % par rapport au taux initial.

Les modifications des facteurs XII et VIII de coagulation, induites par le chauffage, sont donc identiques dans le liquide synovial et dans le plasma.

MATERIEL AJOUTE	TEMPS DE CEPHALINE KAOLIN (en secondes)			
	D'un plasma de déficit en facteur VIII		D'un plasma de déficit en facteur XII	
	Moyenne **	Variations extrêmes	Moyenne	Variations extrêmes
Liquide synovial *				
avant chauffage	250	172 - 327	211	202 - 223
après chauffage	280	216 - 340	235	220 - 260
Plasma témoin *				
avant chauffage	136	115 - 154	150	
après chauffage	280	216 - 340	165	
Tampon	280	216 - 340	450	420 - 480

(*) Dilution au 1/20e pour la correction du plasma d'hémophile, au 1/40e pour celle du déficit en facteur XII.

(**) Moyenne effectuée sur 12 déterminations.

TABLEAU X - EFFET DU CHAUFFAGE (56° C, 30 minutes) SUR L'ACTION COAGULANTE DU LIQUIDE SYNOVIAL SUR LES PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL EN FACTEURS VIII ET XII

V) EN RESUME :

Le liquide synovial normal, de viscosité élevée, se montre très pauvre en éléments cellulaires et contient de faibles quantités de protéines (13,6 g/litre en moyenne). L'activité enzymatique, d'origine lysosomiale, est fort discrète, puisque le taux de phosphatase acide dans le liquide ne dépasse pas 4 unités.

L'étude des facteurs de la coagulation du liquide synovial nous a permis de formuler les conclusions suivantes :

— l'absence de fibrinogène et de facteur V est constante ;

— les taux de facteurs VIII, IX, X, VII et II sont très faibles, parfois même nuls dans certains liquides ;

— le taux de facteur XII par contre, se trouve en quantité relativement importante (7 à 45 % par rapport au plasma normal de référence). Nos recherches confirment ainsi les travaux de KELLERMEYER.

Nous avons prouvé, par différents contrôles, que la correction par le liquide synovial des temps de coagulation des différents plasmas de déficits congénitaux est bien rapportée à l'apport spécifique des facteurs en cause.

Par exemple, en effet, l'addition du liquide synovial chauffé, à 56° C, pendant 30 minutes, n'entraîne plus la correction du temps de coagulation d'un plasma d'hémophile A.

Cette observation prouve la labilité du facteur qui intervenait initialement dans la correction, c'est-à-dire celle du facteur VIII.

De plus, l'utilisation d'acide ellagique, activateur spécifique du facteur XII, a permis de conclure à la présence indiscutable de ce facteur dans le liquide synovial normal.

CHAPITRE II

ÉTUDE DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE

A côté des rhumatismes articulaires inflammatoires, se placent les arthroses qui sont des rhumatismes dégénératifs. Chez le sujet jeune, le cartilage présente une surface brillante, lisse. Chez l'individu normal à partir de 50 ans, on note toujours des petites érosions discrètes au niveau du cartilage. Chez les sujets atteints d'arthrose, la tendance du cartilage « à s'user » s'accentue de façon pathologique, parallèlement on assiste à un développement osseux caractéristique avec apparition d'excroissances appelées ostéophytes qui déforment l'articulation et gênent son mouvement **(Figure 1)**. L'arthrose est donc une maladie chronique, dégénérative, qui n'atteint en général qu'une seule articulation. C'est une maladie du cartilage, secondairement de l'os, ce qui la différencie des arthrites où l'atteinte primitive est l'altération de la synoviale.

CARACTERES PHYSIQUES DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE

Tous les liquides que nous avons étudiés présentent des caractères physiques semblables. Il s'agit de liquides jaune clair, limpides. Le volume recueilli par ponction varie selon les sujets, mais n'est jamais très important (inférieur à 7 ml quand l'articulation ponctionnée est le genou). La viscosité est légèrement diminuée par rapport à celle des

FIGURE 1 - ARTICULATION D'UN SUJET ATTEINT D'ARTHROSE SELON DE SEZE ET MAITRE (127).

liquides témoins, bien que le précipité de mucine obtenu par addition d'acide acétique se montre identique à celui des liquides normaux : masse gélatineuse, homogène.

ETUDE CYTOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE

Le nombre d'éléments figurés présent dans les liquides arthrosiques est soit normal, soit modérément augmenté, comme le traduit le **tableau I.**

GLOBULES BLANCS PAR mm³ DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE	
VALEUR MOYENNE *	VARIATIONS EXTREMES
860	20 - 2700

(*)Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU I - NOMBRE DE GLOBULES BLANCS DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE

Le pourcentage de polynucléaires est faible, inférieur à 25 %.

La présence de ragocytes se montre inconstante. En effet, ces cellules ne sont retrouvées que dans certains liquides et quand elles existent le pourcentage relatif par rapport au nombre total d'éléments figurés reste faible **(Tableau II).**

7 LIQUIDES EXAMINES	
DANS 4 LIQUIDES	DANS 3 LIQUIDES
Absence de ragocytes	1 - 25 % de ragocytes

TABLEAU II - RAGOCYTES DANS LES LIQUIDES D'ARTHROSE.

ETUDE CHIMIQUE ET ENZYMOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE

— Teneur en protéines.

Elle est supérieure à celle trouvée dans les liquides normaux, puisque le taux moyen s'élève à 30 grammes par litre.

— **Taux de complément hémolytique.**

Les travaux de PELTIER et coll. (102, 103), et de HEDBERG (43) mettent en évidence une augmentation du taux de complément par rapport aux valeurs normales du liquide synovial (concentration aux environs de 25 Unités/ml).

— **Activité enzymatique.**

Parallèlement, aux liquides synoviaux normaux et inflammatoires, il nous a semblé intéressant d'évaluer l'activité de la phosphatase acide dans les liquides d'arthrose. Les taux, rapportés dans le **Tableau III,** sont sensiblement identiques à ceux des liquides normaux.

PHOSPHATASE ACIDE EN UNITES POUR 100 ml DE LIQUIDE			
LIQUIDE NORMAL		LIQUIDE D'ARTHROSE	
Valeur moyenne *	Variations extrêmes	Valeur moyenne **	Variations extrêmes
2,8	1 - 4	2,5	1 - 3,7

(*) Moyenne de 5 déterminations effectuées sur des liquides différents.
(**) Moyenne de 4 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU III - COMPARAISON DU TAUX DE PHOSPHATASE ACIDE DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX ET ARTHROSIQUES

ETUDE DE LA COAGULATION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE

Une étude de l'activité coagulante de 7 liquides synoviaux d'arthrose a été effectuée.

I) ACTIVITE THROMBIQUE ET ANTITHROMBINE IMMEDIATE.

Comme les liquides normaux, les liquides synoviaux d'arthrose sont dépourvus d'activité thrombique et d'antithrombine immédiate.

II) FIBRINOGENE.

Le fibrinogène est soit absent dans les liquides synoviaux d'arthrose, soit présent en quantité très faible (inférieure à 0,200 g par litre dans les 7 prélèvements examinés) **(Tableau IV)**. De plus, jamais de traces de fibrine évidente n'a été observée.

7 LIQUIDES SYNOVIAUX EXAMINES	
↓ DANS 3 LIQUIDES	↓ DANS 4 LIQUIDES
Absence de fibrinogène	Présence de fibrinogène traces — 0,200 g/litre

TABLEAU IV - FIBRINOGENE DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHROSE.

III) FACTEURS DU COMPLEXE PROTHROMBINIQUE.

Comme pour les liquides normaux, cette étude a été effectuée selon deux modalités différentes puisque certains facteurs sont communs à la thromboplastinoformation exogène et endogène.

A) DOSAGE SPECIFIQUE DES FACTEURS II, V, VII ET X, EN PRESENCE DE THROMBOPLASTINE TISSULAIRE.

Comme il est indiqué dans le **tableau V,** le facteur V est constamment absent des liquides étudiés. Les autres facteurs sont présents à des concentrations faibles, cependant, les taux trouvés sont supérieurs à ceux des liquides normaux.

FACTEURS ETUDIES	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) EN PRESENCE DE			Taux en pourcentage par rapport au plasma normal	
	LIQUIDE SYNOVIAL *		Tampon		
	Valeur moyenne **	Variations extrêmes		Valeur moyenne	Variations extrêmes
Facteur V	110	95 - 120	120	traces	0 - 1
Facteur X	55	40 - 75	105	10	6 - 20
Facteurs VII + X	75	50 - 95	300	12	7,5 - 20
Facteur II	43	36 - 52	80	14	7,5 - 19,5

(*) Mesure effectuée sur le liquide synovial dilué au $1/10^{e}$.
(**) Moyenne de 5 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU V - DOSAGE DES FACTEURS II, V, VII ET X DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE.

B) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEUR X OU EN FACTEUR V.

1°) ACTION SUR LE TEMPS DE CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES.

L'addition des liquides non dilués entraîne un raccourcissement franc du temps de céphaline des plasmas de déficit majeur en facteur X ou V **(Tableau VI)**.

SUBSTRAT	TEMPS DE COAGULATION (en minutes) EN PRESENCE DE			
	Plasma normal non dilué	Liquide synovial non dilué		Tampon
		Moyenne	Variations extrêmes	
Plasma de déficit en facteur V	5	5,45	5 - 6,30	12
Plasma de déficit en facteur X	4	4,45	4 - 5,30	14,30

TABLEAU VI - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL SUR LE TEMPS DE CEPHALINE, EN TUBES SILICONES, D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR V OU EN FACTEUR X.

Ces résultats sont en discordance avec les données fournies par les dosages spécifiques des facteurs V et X (méthode en présence de thromboplastine tissulaire).

2°) ESSAIS DE DOSAGE DES FACTEURS X ET V (METHODE UTILISANT LA CEPHALINE ET LE KAOLIN).

La discordance précédente n'est pas observée lorsque la correction du temps de céphaline des plasmas dépourvus de facteur X ou de facteur V est effectuée par le liquide synovial dilué au 1/40^{e} en tampon véronal, en présence de kaolin (dont le rôle est d'activer de façon standard le facteur Hageman). En effet, les résultats (un exemple est rapporté dans le **tableau VII)** montrent une parfaite concordance entre les taux de facteurs X et V déterminés par les deux méthodes différentes, d'une part, en présence de thromboplastine tissulaire et d'autre part, en présence de céphaline et de kaolin.

METHODE	TAUX DE FACTEUR V (en pourcentage par rapport au plasma normal)	TAUX DE FACTEUR X (en pourcentage par rapport au plasma normal)
EN PRESENCE DE THROMBOPLASTINE	0	20
EN PRESENCE DE CEPHALINE ET DE KAOLIN	0	20

TABLEAU VII - COMPARAISON ENTRE LE TAUX DE FACTEUR V OU X DETERMINE PAR DEUX METHODES DIFFERENTES

IV) FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE.

A) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE SUR LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE GLOBALE D'UN PLASMA NORMAL.

Comme pour les liquides normaux, l'addition du liquide arthrosique à une mixture de génération de thromboplastine endogène n'entraîne pas d'accélération de la formation de prothrombinase, ni d'augmentation de l'activité de cette dernière.

De même, l'addition du liquide à un plasma témoin ne modifie pas son temps de céphaline-kaolin par rapport au contrôle.

B) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE SUR LES TEMPS DE COAGULATION DE PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEURS XII, IX OU VIII.

1°) ACTION SUR LE TEMPS DE CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES.

L'addition du liquide synovial entraîne un raccourcissement marqué du temps de céphaline des différents plasmas déficitaires utilisés **(Tableau VIII).**

SUBSTRAT	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) EN PRESENCE DE			
	Liquide synovial non dilué		Plasma témoin non dilué	Tampon
	Moyenne *	Variations extrêmes		
Plasma de déficit en facteur XII	180	150 - 220	300	600
Plasma de déficit en facteur IX	180	150 - 230	330	1200
Plasma de déficit en facteur VIII	195	160 - 250	330	1200

(*) Moyenne effectuée sur 4 déterminations différentes.

TABLEAU VIII - ACTION DES LIQUIDES D'ARTHROSE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE, EN TUBES SILICONES, DE PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEURS XII, IX OU VIII.

2°) DOSAGE DES FACTEURS XII, IX ET VIII (METHODE EN UN TEMPS UTILISANT LA CEPHALINE ET LE KAOLIN).

Le dosage des différents facteurs est explicité dans le **tableau IX.**

	TAUX DES FACTEURS XII, IX et VIII (en pourcentage par rapport au plasma normal)	
	MOYENNE *	VARIATIONS EXTREMES
FACTEUR XII	53	27 - 80
FACTEUR VIII	5,5	0 - 10
FACTEUR IX	10	5 - 15

(*) Moyenne de 6 déterminations effectuées sur des liquides différents dilués au 1/40°.

TABLEAU IX - DOSAGE DES FACTEURS XII, IX ET VIII DANS LES LIQUIDES D'ARTHROPATHIES DEGENERATIVES.

Donc, comme pour les facteurs X et V, la même discordance est observée entre la correction importante induite par ces liquides sur le temps de céphaline des plasmas d'hémo-

phile A ou B, mesuré en tubes siliconés, et le taux faible en facteur VIII ou IX de ces mêmes liquides. Par contre, le taux de facteur XII beaucoup plus élevé peut expliquer la correction du temps de céphaline du plasma de déficit en facteur Hageman.

L'ensemble de ces données laisse supposer que l'action de ces liquides synoviaux non dilués sur le temps de recalcification, en tubes siliconés, des plasmas de déficit en facteur XII, IX, VIII, X et V pourrait être expliquée en grande partie par la présence du facteur Hageman partiellement activé dans le liquide. Celui-ci n'influence pas le dosage spécifique des facteurs VIII et IX, X ou V, car les déterminations sont effectuées avec un liquide dilué au 1/40e et en présence de kaolin activant de façon importante le facteur XII présent dans le liquide et dans le plasma réactif.

3°) ACTION DE L'ACIDE ELLAGIQUE.

La correction du temps de céphaline, effectué en tubes siliconés, d'un plasma de déficit en facteur XII par le liquide synovial dilué est très supérieure en présence d'acide ellagique utilisé à la concentration finale de 10^{-3} M **(Tableau X).** Ceci confirme (RATNOFF) la présence de facteur XII dans les liquides synoviaux d'arthrose.

TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII (en sec.) EFFECTUE EN TUBES SILICONES EN PRESENCE DE	
Liquide synovial dilué au 1/40 + tampon d'Owren-Koller	Liquide synovial dilué au 1/40 + acide ellagique 10^{-3} M
300	180

TABLEAU X - ACTION DE L'ACIDE ELLAGIQUE SUR LA CORRECTION DU TEMPS DE RECALCIFICATION D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LE LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE

4°) EFFET DU CHAUFFAGE.

Après chauffage à 56° C pendant 30 minutes, le liquide synovial est dépourvu de facteur VIII. En effet, le temps de céphaline-kaolin d'un plasma d'hémophile A n'est pas raccourci par addition du liquide ainsi traité et dilué au 1/10e en tampon d'OWREN-KOLLER, comme le montre le **tableau XI.**

TEMPS DE CEPHALINE KAOLIN D'UN PLASMA D'HEMOPHILE A (en secondes) EN PRESENCE DU		
PLASMA TEMOIN chauffé, dilué au 1/10	DU LIQUIDE SYNOVIAL chauffé, dilué au 1/10	TAMPON
330	330	330

TABLEAU XI - ABSENCE DE FACTEUR VIII DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL CHAUFFE

Ces faits correspondent au caractère de thermolabilité du facteur VIII, et laissent envisager que le dosage de celui-ci dans le liquide synovial d'arthrose est spécifique.

En outre, les pertes de facteur XII, occasionnées soit par le chauffage seulement, soit par l'association du chauffage et de l'adsorption sur gel d'hydroxyde d'alumine (1 partie pour 9 parties de liquide ou de plasma) sont équivalentes dans les liquides et le plasma normal **(Tableau XII).**

Taux de facteur XII dans le liquide non traité en pourcentage par rapport au facteur XII du plasma normal non traité	Taux de facteur XII dans le même liquide, après chauffage à 56° C et adsorption, en pourcentage par rapport au facteur XII du plasma normal traité dans les conditions identiques
70	72

TABLEAU XII - EFFET DU CHAUFFAGE ET DE L'ADSORPTION SUR LE FACTEUR XII DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHROSE ET DU PLASMA TEMOIN

V) EN RESUME.

Comparativement aux liquides normaux, les liquides synoviaux d'arthrose ont une viscosité diminuée, présentent un taux élevé de protéines et de complément hémolytique et montrent une activité enzymatique, d'origine lysosomiale, normale.

De l'étude de la coagulation, les conclusions suivantes peuvent se dégager :

— l'absence d'activité thrombique et d'antithrombine immédiate paraît constante.

— dans la moitié des liquides, l'absence de fibrinogène est notée, dans l'autre moitié, la concentration, très faible, n'excède jamais 0,20 g/litre.

— l'examen des autres facteurs de coagulation montre :

— **d'une part, certaines analogies** entre les liquides synoviaux normaux et ceux provenant d'arthrose, puisque tous sont dépourvus de facteur V et possèdent de très faibles quantités de facteurs antithémophiliques A et B ;

— **d'autre part, certaines différences,** en effet, dans les liquides synoviaux pathologiques la concentration en facteurs II, VII, X et essentielement XII apparaît plus élevée que dans les liquides normaux. La présence de facteur XII serait responsable de l'activation de la coagulation, en tubes siliconés, des plasmas de déficit en facteurs VII, IX, X et V par les liquides synoviaux d'arthrose non dilués.

Les taux de facteurs X ou V sont identiques lorsqu'ils sont déterminés par deux techniques différentes, l'une faisant intervenir la thromboplastinoformation endogène et l'autre la thromboplastinoformation exogène. Cette concordance prouve la spécificité réelle des techniques utilisées.

L'action de l'acide ellagique, comme pour les liquides normaux, permet de conclure formellement à la présence du facteur XII dans le liquide synovial d'arthrose.

En outre, les modifications des « activités XII et VIII » du liquide, provoquées par le chauffage ou l'adsorption, sont superposables à celles observées avec le plasma normal.

CHAPITRE III

ÉTUDE DU LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE

La goutte est une affection multisystémique qui touche particulièrement les articulations et qui est dûe à l'excès d'acide urique dans les humeurs de l'organisme (128). Elle se manifeste soit par des accès aigus d'inflammation synoviale liés à la présence de nombreux microcristaux d'urate de sodium dans la cavité synoviale, soit par des dépôts d'urate de sodium au sein du cartilage et des structures articulaires. Radiologiquement, elle se signale dans les formes évoluées par un pincement articulaire, une ostéophytose de pourtour et des géodes dans les extrémités osseuses. L'aspect anatomo pathologique est caractéristique de l'affection avec la présence d'urate de sodium sous forme de cristaux aciculaires dans le cartilage, les épiphyses et la synoviale, qui lorsqu'elle est importante, peut entraîner des lésions dégénératives du cartilage et des destructions osseuses ainsi qu'une inflammation chronique de la synoviale avec développement de ses franges. La surcharge uratique des goutteux se traduit biologiquement par une hyperuricémie. Sa cause est difficile à expliquer, on évoque :

— soit une insuffisance de destruction de l'acide urique ; mais cette hypothèse est difficile à admettre si l'on sait que l'uricase, enzyme uricolytique, est absente chez l'homme.

— soit une élimination diminuée de l'acide urique, la clearance de l'acide urique est en principe diminuée chez les goutteux, même si les autres fonctions rénales sont par ailleurs normales.

— soit un excès de production de l'acide urique, lié à la biosynthèse des purines. Ainsi, un régime trop riche en purine, ou un excès de catabolisme nucléo-protéique peuvent contribuer à l'hyperuricogénèse.

A côté des gouttes classiques, sont rangées les arthrites microcristallines « pseudo-goutteuses » où l'on assiste à une précipitation de cristaux de pyrophosphate de calcium dans l'articulation.

CARACTERES PHYSIQUES DES LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE

Les liquides sont jaune clair, généralement troubles. Le volume recueilli est, dans la majorité des cas, important (plus de 10 ml quand l'articulation ponctionnée est le genou). La viscosité se montre très diminuée, traduisant la dénaturation de la mucine. D'ailleurs, la précipitation par l'acide acétique de cette mucine conduit à la formation d'un caillot de petite taille et facilement dissociable.

ETUDE CYTOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE

Nombre d'éléments figurés.

Les liquides ponctionnés chez les sujets présentant une crise de goutte aiguë ont un nombre élevé de globules blancs dont 75 % sont des polynucléaires. Nous avons effectué cette étude sur 10 liquides et les résultats sont résumés dans le **tableau I.**

ELEMENTS FIGURES DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL DE « GOUTTE AIGUE » par mm3	
MOYENNE	VARIATIONS EXTREMES
12.300	1180 - 32.000

TABLEAU I - EXAMEN CYTOLOGIQUE DES LIQUIDES DE GOUTTE AIGUE

L'hypercytose est beaucoup plus discrète chez les goutteux présentant un épanchement liquidien, en dehors des périodes de crise, le nombre d'éléments par mm3 est inférieur à 500.

Ragocytes :

L'indice de ragocytose est variable. L'absence de ragocytes est notée dans la moitié des liquides, dans l'autre moitié, le pourcentage trouvé varie de 1 à 32 % **(Tableau II).**

12 LIQUIDES EXAMINES	
6 LIQUIDES	6 LIQUIDES
Absence de ragocytes	Présence de ragocytes % par rapport au nombre total de cellules
	MOYENNE 17 — VARIATIONS EXTREMES 1 - 32

TABLEAU II - RAGOCYTOSE DANS LES LIQUIDES « DE GOUTTE »

Cristaux d'urate de sodium :

La constatation, dans les liquides synoviaux, de cristaux d'urate de sodium à aspect caractéristique signe le diagnostic (19). Beaucoup d'entre eux sont intra-leucocytaires pendant les périodes de crise aiguë et extra-cellulaires en dehors des crises. Nos observations confirment celles des différents auteurs (75, 76, 152). Dans la pseudo-goutte, des cristaux de pyrophosphate de calcium sont retrouvés (64).

ETUDE CHIMIQUE ET ENZYMOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE

Le taux de protéines, bien que supérieur à celui des liquides normaux, reste inférieur à celui du plasma (moyenne de 40 g/litre).

Le taux de complément hémolytique, déterminé par PELTIER, se situe toujours au-dessus de 25 unités/ml ce qui dénote une augmentation franche.

Les phosphatases acide et alcaline ont été dosées sur trois prélèvements, provenant de sujets en état de crise de goutte aiguë. Seule l'activité de la phosphatase acide a constamment été très supérieure à celle observée dans les liquides normaux **(Tableau III).**

PHOSPHATASES ACIDE ET ALCALINE
(en unités/100 ml)

	Liquide normal		« Liquide de goutte aiguë »	
	Moyenne	Variations extrêmes	Moyenne *	Variations extrêmes
PHOSPHATASE ACIDE	2,8	1 - 4	9,5	7,5 - 13
PHOSPHATASE ALCALINE	2	1 - 4	1,8	1 - 3,5

(*) Moyenne de 3 déterminations effectuées sur des échantillons différents.

TABLEAU III - ACTIVITE PHOSPHATASIQUE DANS LES « LIQUIDES DE GOUTTE » COMPARATIVEMENT AUX LIQUIDES NORMAUX

ETUDE DE LA COAGULATION DES LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE

Nous envisagerons successivement :

— L'étude des facteurs de coagulation présents dans le liquide synovial de goutte.

— Le rôle des cristaux d'urate de sodium dans l'activation du facteur XII.

ETUDE DES FACTEURS DE COAGULATION.

12 liquides ont été examinés : 10 proviennent de sujets en état de crise de goutte aiguë, 2 liquides ont, par contre, été prélevés chez des goutteux reconnus, présentant un épanchement liquidien important, en dehors des périodes de crise.

I) ACTIVITE THROMBIQUE ET ANTITHROMBINE IMMEDIATE.

Comme pour les liquides normaux, nous n'avons mis en évidence ni activité thrombique (absence de propriétés coagulantes sur le fibrinogène), ni antithrombine immédiate. Ces deux caractères négatifs permettent d'envisager l'étude plus poussée de la coagulation de ces liquides.

II) FIBRINOGENE.

La présence de fibrinogène est inconstante dans les liquides comme le montre le **tableau IV.** En effet, sur 8 liquides examinés, 3 seulement contiennent du fibrinogène.

8 LIQUIDES EXAMINES	
↓	↓
5 LIQUIDES Absence de fibrinogène	3 LIQUIDES Présence de fibrinogène traces - 0,600 g par litre

TABLEAU IV - FIBRINOGENE DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE

Dans un neuvième liquide, la présence d'un caillot de fibrine formée a été observée malgré l'introduction de citrate de sodium comme anticoagulant.

III) FACTEURS DU COMPLEXE PROTHROMBINIQUE.

Cette étude a été effectuée selon deux modalités différentes, puisque les facteurs V et X interviennent à la fois au cours de la thromboplastinoformation endogène et exogène.

A) DOSAGE SPECIFIQUE DES FACTEURS II, V, VII et X, EN PRESENCE DE THROMBOPLASTINE TISSULAIRE

Le facteur V est absent ou présent à des concentrations très faibles dans les liquides envisagés. Les facteurs II, VII et X s'y trouvent à un taux nettement supérieur à celui existant dans les liquides normaux comme le montre le **tableau V.**

FACTEURS ETUDIES	TEMPS DE COAGULATION (sec.) EN PRESENCE DE :			Taux en pourcentage par rapport au plasma normal	
	Liquide synovial		Tampon		
	Moyenne *	Variations extrêmes		Moyenne *	Variations extrêmes
Facteur V	80	50 - 120	120	3	0 - 12
Facteur X	27,5	24 - 32	105	46	30 - 80
Facteurs VII + X	37	30 - 45	180	38	25 - 65
Facteur II	34	22 - 40	180	28	10 - 50

(*) Moyenne de 10 déterminations effectuées sur des échantillons différents (liquide dilué au 1/10e).

TABLEAU V - DOSAGE DES FACTEURS II, V, VII et X DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE

B) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEUR V OU X

La correction du temps de recalcification, en présence de céphaline et de kaolin, de plasma de déficit congénital en facteur V ou X par différentes dilutions de plasma témoin ou par le liquide à étudier (dilué au 1/40e), conduit à des résultats en parfaite concordance avec ceux déterminés par la première méthode. **Le tableau VI** en montre un exemple :

FACTEURS ETUDIES	TAUX EN POURCENTAGE PAR RAPPORT AU PLASMA NORMAL DANS LE LIQUIDE	
	Méthode en présence de céphaline-kaolin	Méthode en présence de thromboplastine tissulaire
FACTEUR V	13	12
FACTEUR X	83	80

TABLEAU VI - CORRELATION ENTRE LE TAUX DE FACTEUR V OU X MESURE PAR DEUX METHODES DIFFERENTES

IV) FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE.

A) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE SUR LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE GLOBALE D'UN PLASMA TEMOIN

De même que pour les prélèvements normaux, l'addition de ce liquide ne modifie pas la génération de thromboplastine endogène d'un plasma normal, évaluée selon le test de HICKS et PITNEY.

B) ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE SUR LE TEMPS DE COAGULATION DES PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL MAJEUR EN FACTEURS XII, IX OU VIII.

1°) ACTION SUR LE TEMPS DE CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES

L'addition du liquide synovial de goutte entraîne un raccourcissement franc du temps de céphaline du plasma de déficit en facteur XII. L'action sur le plasma de déficit en facteur IX ou VIII est plus modérée **(tableau VII)**.

SUBSTRAT	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) EN PRESENCE DE :			
	Liquide synovial non dilué		Plasma normal non dilué	Tampon
	Moyenne *	Variations extrêmes		
PLASMA DE DEFICIT EN :				
FACTEUR XII	220	180 - 250	300	680
FACTEUR IX	300	270 - 360	330	> 1200
FACTEUR VIII	350	310 - 410	340	1300

(*) Moyenne de 4 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

TABLEAU VII - ACTION DES LIQUIDES DE GOUTTE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEURS XII, IX ET VIII (EN TUBES SILICONES)

2°) DOSAGE DES FACTEURS XII, IX ET VIII PAR UNE METHODE SPECIFIQUE EN UN TEMPS

Le dosage des différents facteurs, en présence de céphaline et de kaolin, montre l'augmentation significative du

facteur XII (par rapport au taux des liquides normaux). Les facteurs IX et VIII sont présents dans les liquides de goutte à une concentration faible **(tableau VIII)**.

L'examen de ces résultats laisse apparaître la discordance entre le taux faible de ces facteurs et l'action nette du liquide synovial sur les temps de coagulation des plasmas de déficit en facteurs IX et VIII.

FACTEURS ETUDIES	TAUX DE FACTEURS XII, IX, VIII EN POURCENTAGE PAR RAPPORT A UN PLASMA NORMAL	
	Moyenne *	Variations extrêmes
FACTEUR XII	62	40 - 90
FACTEUR IX	9	traces - 20
FACTEUR VIII	5,7	traces - 11

(*) Déterminations effectuées sur 10 liquides différents pour le dosage du facteur XII, sur 5 liquides différents pour le dosage des facteurs VIII et IX.

TABLEAU VIII - DOSAGE DES FACTEURS XII, IX ET VIII DANS LES LIQUIDES D'ARTHRITE MICROCRISTALLINE

3°) ACTION DE L'ACIDE ELLAGIQUE

Cette action permet de confirmer la présence du facteur XII dans ces liquides, en effet, la correction du temps de coagulation exercée sur le plasma de déficit en facteur XII par l'addition du liquide synovial est très supérieure en présence d'acide ellagique (concentration finale 10^{-3} M) qui active spécifiquement le facteur XII **(Tableau IX)**.

MATERIEL AJOUTE	TEMPS DE COAGULATION (en secondes) D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DE :	
	Acide ellagique 10^{-3} M	Tampon
LIQUIDE SYNOVIAL DILUE AU 1/40	150	340
TAMPON	400	480

TABLEAU IX - EFFET DE L'ACIDE ELLAGIQUE SUR LA CORRECTION DU TEMPS DE CEPHALINE DU PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE

4°) SPECIFICITE DU DOSAGE DU FACTEUR XII DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE

L'emploi d'un sérum anti-facteur XII a permis d'affirmer que le dosage du facteur Hageman, dans les liquides de goutte, est spécifique et n'est pas influencé par d'autres facteurs. En effet, « l'activité XII » est totalement neutralisée par le sérum spécifique anti-facteur XII.

Le réactif Hageman servant de témoin, le liquide synovial a été préalablement chauffé à 56° C et adsorbé par le phosphate tricalcique (traitement identique au réactif Hageman de référence).

Comme il apparaît sur le **tableau X :**

— Après une incubation de 1 heure à 37° C et de 18 heures à +4° C, l'activité du réactif Hageman passe de 80 % à une valeur inférieur à 5 % traduisant la neutralisation spécifique de l'activité XII par le sérum anti-Hageman. Cette neutralisation ne se produit pas avec le contrôle effectué avec le sérum de lapin normal (l'activité reste pratiquement inchangée puisqu'elle demeure aux environs de 80 %).

— De même après une incubation identique avec le sérum anti-facteur Hageman, « l'activité XII » du liquide synovial est pratiquement totalement neutralisée puisque le taux de facteur Hageman passe de 60 % à 5 %. Cette neutralisation ne s'effectue pas en présence de sérum de lapin (contrôle) puisque le taux reste inchangé (60 %).

5°) EFFET DU CHAUFFAGE

Le chauffage à 56° C pendant 30 minutes du liquide synovial de goutte entraîne la disparition totale du facteur VIII, et la perte de 30 % du facteur XII initialement présent dans le liquide frais.

MIXTURES D'INCUBATION	Temps de cephaline-kaolin (en sec.) d'un plasma de déficit en facteur XII en présence des différentes mixtures diluées au 1/10	Activité XII résiduelle présente dans les mixtures (en % par rapport au plasma témoin *)
A) SERUM SPECIFIQUE ANTIFACTEUR XII +		
Volume égal de :		
Tampon	630	< 1
Réactif Hageman dilué au 1/4	580	< 5
Liquide synovial adsorbé et chauffé puis dilué au 1/4	500	< 5
B) SERUM DE LAPIN NORMAL DEPOURVU DE FACTEUR XII +		
Volume égal de :		
Tampon	620	< 1
Réactif Hageman dilué au 1/4	185	80
Liquide synovial adsorbé et chauffé puis dilué au 1/4	220	60
C) TAMPON +		
Volume égal de :		
Réactif Hageman dilué au 1/4	180	85
Liquide synovial adsorbé et chauffé puis dilué au 1/4	220	60

(*) Le calcul tient compte de la dilution finale (au 1/80e) du réactif Hageman et du liquide étudié.

TABLEAU X - NEUTRALISATION DU FACTEUR XII, DU LIQUIDE SYNOVIAL DE GOUTTE, PAR UN SERUM SPECIFIQUE ANTI-FACTEUR HAGEMAN

ACTIVATION DU FACTEUR HAGEMAN PAR L'URATE DE SODIUM.

KELLERMEYER (58) a suggéré que les phénomènes inflammatoires au cours de la crise de goutte aiguë sont liés à la réalisation d'une suite de réactions enzymatiques aboutissant à la bradykinine et dépendant de l'activation du fac-

teur XII par les cristaux d'urate de sodium. Nous avons étudié comparativement l'activation du facteur XII par le kaolin, l'acide ellagique, et l'urate de sodium cristallisé et amorphe.

I) EFFET DES DIFFERENTS ACTIVATEURS SUR LE TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA TEMOIN.

Comme le montre le **tableau XI,** le kaolin et l'acide ellagique (à la concentration finale de 10^{-3} M) ont un effet activateur important sur la coagulation ; l'action de l'acide ellagique 10^{-5} M ou de l'urate de sodium (5 mg par ml) sous forme cristallisée est plus discrète mais reste évidente. Notons que l'urate de sodium sous forme amorphe ne raccourcit pas le temps de recalcification d'un plasma normal en présence de céphaline.

TEMPS DE CEPHALINE EN TUBES SILICONES D'UN PLASMA TEMOIN (en secondes) EN PRESENCE DE :

	Kaolin	Acide ellagique			Urate de sodium cristallisé	Urate de sodium amorphe	Tampon
Concentration finale	1 mg/ml	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M	5 mg/ml	5 mg/ml	
Temps	60	60	100	140	150	250	230

TABLEAU XI - EFFET DE DIFFERENTS ACTIVATEURS SUR LE TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA TEMOIN

II) LIEU D'ACTION DE CES ACTIVATEURS.

A) ETUDE SUR LES FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION EXOGENE

Comme RATNOFF l'a montré avec l'acide ellagique (110), ces produits ne modifient pas le temps de Quick de plasma témoin ou de plasma déficitaire en facteur V, X, VII ou II **(Tableau XII).**

SUBSTRAT	TEMPS DE QUICK (en sec.) EN PRESENCE DE			
	Tampon	Acide ellagique 10^{-3} M	Kaolin 1 mg/ml	Urate de sodium cristallisé 5 mg/ml
Plasma témoin	13,5	13,5	13,5	13,5
Plasma dépourvu de facteur V	90	92	94	93
Plasma dépourvu de facteur X	106	105	103	105
Plasma dépourvu de facteurs VII et X	> 180	> 180	> 180	> 180
Plasma dépourvu de facteur II	80	81	78	80

TABLEAU XII - EFFET DES ACTIVATEURS SUR LE TEMPS DE QUICK DE PLASMAS NORMAUX ET PATHOLOGIQUES

Ces produits n'agissent donc pas sur les facteurs intervenant dans la thromboplastinoformation exogène.

B) ETUDE SUR LES FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE

L'effet sur le temps de céphaline, en tubes siliconés, de différents plasmas provenant de déficits congénitaux est très significative car toutes les substances étudiées (Kaolin, acide ellagique, urate de sodium) n'ont aucun effet sur le temps de céphaline d'un plasma de déficit en facteur XII ; par contre, elles ont toutes, à l'exception de l'urate de sodium sous forme amorphe, une action certaine sur le temps de céphaline des plasmas d'hémophile sans toutefois en assurer la correction parfaite. **(Tableau XIII).**

SUBSTRAT	TEMPS DE CEPHALINE (en minutes) EN TUBES SILICONES EN PRESENCE DE					
	Tampon	Kaolin 1 mg/ml	Acide ellagique 10^{-3} M	Acide ellagique 10^{-5} M	Urate de sodium Cristalline 5 mg/ml	Urate de sodium Amorphe 5 mg/ml
Plasma témoin	3,50	1,05	1,04	2,07	2,10	4
Plasma de déficit en						
— Facteur XI	5,30	1,50	1,50	3,25	3,30	5,40
— Facteur IX	17	5,10	4,50	10,15	10,30	19
— Facteur VIII	15	4	4,05	10	10,30	17
— Facteur XII	11,10	11,15	10,50	11,15	11,10	11,20

TABLEAU XIII - EFFET DE PRODUITS TESTES SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS NORMAUX ET ANORMAUX

L'étude de ces différents résultats suggère que l'activation de la coagulation par ces différentes substances est étroitement liée au facteur XII.

Cette hypothèse est confirmée par l'expérience suivante qui en apporte une preuve supplémentaire. La correction du temps de céphaline d'un plasma de déficit en facteur Hageman par le plasma témoin dilué au 1/40e est meilleure quand celui-ci a été préalablement incubé avec un de ces activateurs **(Tableau XIV).**

MIXTURE D'INCUBATION *	TEMPS DE CEPHALINE ** (en minutes) D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DES DIFFERENTES MIXTURES
Tampon	11,30
Tampon + différents activateurs	11,20 - 11,40
Plasma témoin dilué au 1/10	
+ Tampon	5
+ Acide ellagique 10^{-4} M ***	1,30
+ Acide ellagique 10^{-5} M ***	2,20
+ Urate de sodium cristallisé (5 mg/ml)	2,20

(*) Mixture incubée 5 minutes à 37° C.
(**) Effectuée en tubes siliconés.
(***) Concentration finale dans la mixture.

TABLEAU XIV - CORRECTION DU TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LE PLASMA NORMAL EN PRESENCE DE DIFFERENTS ACTIVATEURS

III) ACTIVATION DU FACTEUR XII PRESENT DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL PAR LES CRISTAUX D'URATE DE SODIUM.

La même expérience a été reproduite avec le liquide synovial normal **(Tableau XV).**

MIXTURE D'INCUBATION	TEMPS DE CEPHALINE DU PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII (en minutes) EN PRESENCE DES DIFFERENTES MIXTURES
Tampon	11
Liquide dilué au 1/10 + Tampon	5,15
+ Urate de sodium cristallisé (5 mg/ml)	3,10

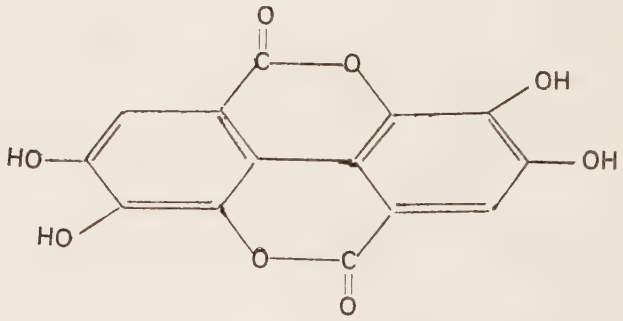
TABLEAU XV - CORRECTION DU TEMPS DE CEPHALINE D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII PAR LE LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL EN PRESENCE D'URATE DE SODIUM CRISTALLISE

IV) CONCLUSION.

Le facteur XII présent sous forme inactive dans le plasma normal ou dans le liquide synovial normal peut être activé par différents produits de structure chimique très diverse mais dont le seul caractère commun est l'électronégativité (48).

Les cristaux d'urate de sodium, par exemple, placés dans un champ électrophorétique migrent vers l'anode, par contre, l'urate de sodium sous forme amorphe n'est pas entraîné par le courant électrique.

L'acide ellagique (104), possédant plusieurs groupement — OH « électronégatifs » est également activateur ; le bloquage de ces fonctions — OH par acétylation fait disparaître son activité sur le facteur XII. La suspension de cristaux d'urate de sodium utilisé à la concentration finale de 5 mg par ml a un effet identique à celui d'une solution d'acide ellagique (10^{-5} M final).



FORMULE CHIMIQUE DE L'ACIDE ELLAGIQUE

EN RESUME.

Le liquide synovial de goutte apparaît très différent du liquide synovial normal. La viscosité très diminuée oriente déjà le biologiste vers le diagnostic d'arthrite inflammatoire, puis l'observation de cristaux signe le diagnostic d'arthrite microcristalline goutteuse (cristaux d'urate de sodium) ou pseudogoutteuse (cristaux de pyrophosphate de calcium). La richesse en leucocytes est grande pendant les crises de

goutte aiguë, mais en dehors de ces périodes la teneur en éléments figurés reste faible parfois inférieure à 500 par mm3. La concentration protéique se montre élevée (40 g/l.). L'augmentation du taux de phosphatase acide, dans les liquides prélevés au cours d'accès de goutte aiguë, apparaît comme la conséquence d'une libération intense du contenu lysosomial des cellules.

L'exploration des facteurs de coagulation semble intéressante et les conclusions suivantes peuvent en être dégagées :

— Absence d'activité thrombique et d'antithrombine.

— Présence inconstante de fibrinogène.

— Augmentation franche des facteurs II, VII et X du complexe prothrombinique, et du facteur XII.

— Faible concentration en facteur V (taux atteignant rarement 12 %) et en facteurs VIII et IX.

L'étude du facteur XII a particulièrement retenu notre attention. Après avoir confirmé l'activation certaine de ce facteur par les cristaux d'urate de sodium, il nous a paru intéressant d'examiner ce facteur dans les liquides de goutte. Sa présence a pu être démontrée de façon certaine par l'utilisation du sérum spécifique anti-Hageman qui neutralise la totalité de « l'activité XII » du liquide, mesurée sur le plasma de déficit en ce facteur. Dès lors le dosage de celui-ci s'est révélé spécifique. En outre, il est possible qu'une fraction de ce facteur XII soit à l'état activé puisque le liquide non dilué raccourcit nettement le temps de coagulation, mesuré en tubes siliconés, de plasmas d'hémophile A ou B malgré un taux très faible en ces facteurs. On peut également admettre que l'activité du liquide synovial sur les plasmas d'hémophile soit dûe à un « facteur interférent », présent à une concentration faible, et en conséquence la dilution des liquides (effectuée pour le dosage des différents facteurs de coagulation) rend son activité négligeable.

CHAPITRE IV

ETUDE DU LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHRITE RHUMATOIDE

L'arthrite rhumatoïde est une affection qui frappe principalement les adultes, et touche plusieurs articulations. La lésion essentielle est l'inflammation de la membrane synoviale avec prolifération des cellules conjonctives à ce niveau. Cette inflammation aboutit à la formation d'un tissu granulomateux bourgeonnant qui s'avance dans la cavité articulaire, s'étend à la surface des cartilages et le pénètre. En même temps, le conjonctif du tissu osseux prolifère ; des îlots de tissu granulomateux se forment et attaquent le cartilage par la face profonde. Attaqué par les deux faces, le cartilage finit par être complètement détruit, le grossier tissu fibreux qui le remplace fait adhérer l'une à l'autre les deux extrémités osseuses : l'articulation est bloquée, c'est l'ankylose (127) **(Figure 1)**. Dans cette affection, on note souvent une hypersécrétion du liquide synovial, produit par la membrane synoviale dans la cavité articulaire. Il nous a semblé intéressant de poursuivre une étude plus approfondie sur un nombre important (44) de liquides pathologiques qui ont pu être prélevés chez des sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde plus ou moins sévère.

Le laboratoire permet de classer les polyarthrites rhumatoïdes en deux groupes :

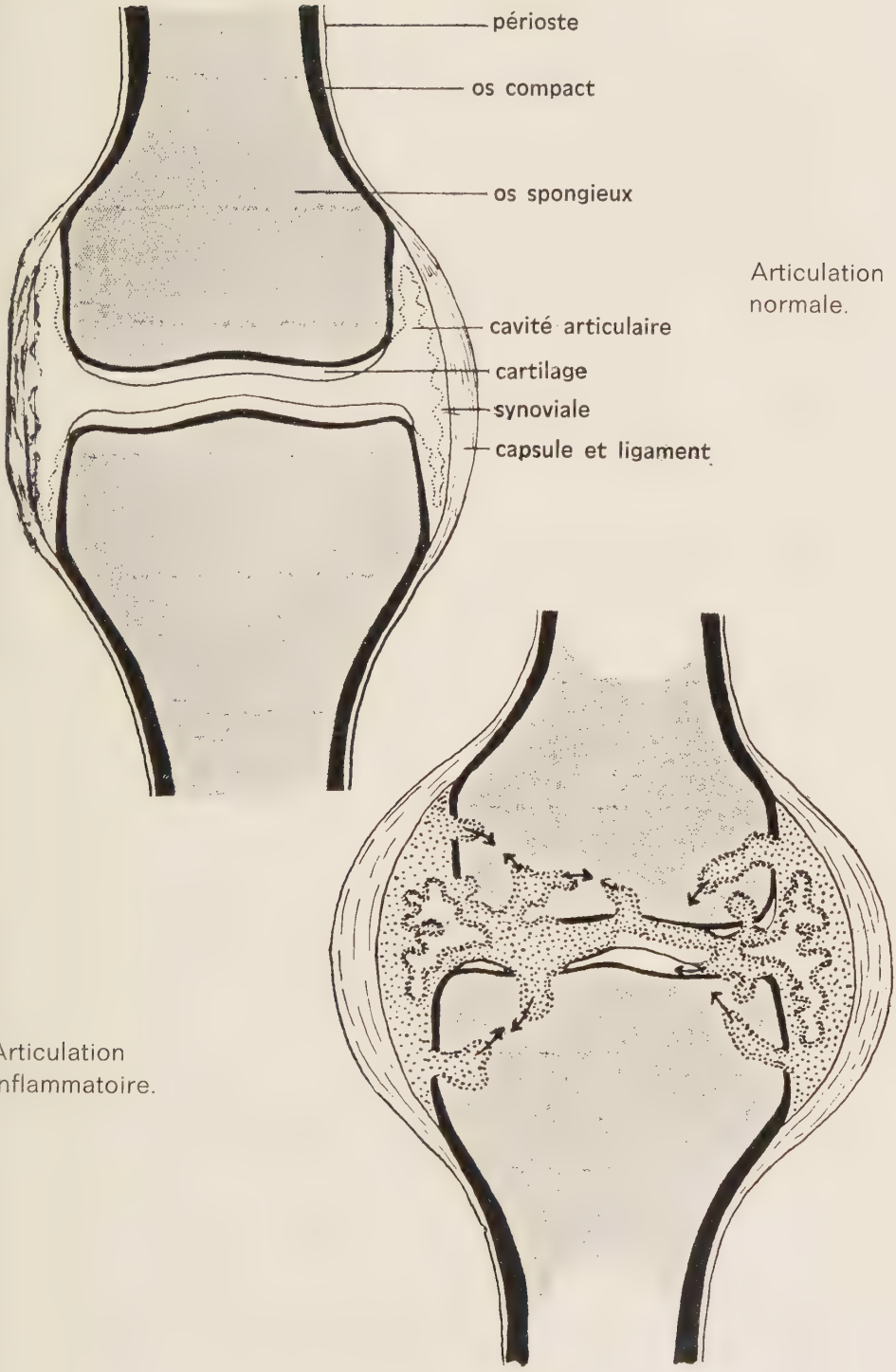


FIGURE 1. - COMPARAISON D'UNE ARTICULATION NORMALE ET D'UNE ARTICULATION INFLAMMATOIRE. FIGURE EXTRAITE DE « CONNAISSANCE ELEMENTAIRE DU RHUMATISME » (127).

1°) **Polyarthrites rhumatoïdes à réaction sérologique positive :**

Le sérum des sujets contient le facteur rhumatoïde (102), macroglobuline mise en évidence en utilisant sa capacité d'agglutiner les γ-globulines dénaturées. Il existe plusieurs techniques pour mettre en évidence cette agglutination bien spéciale. Deux méthodes sont communément utilisées :

— la réaction de WAALER ROSE est la première en date. Elle est considérée comme positive lorsque le sérum dilué au 1/32e est encore capable d'agglutiner les globules rouges sensibilisés.

— le test au latex où les globules sont remplacés par des particules de latex ou polystyrène enduites de γ-globulines humaines normales.

(Certaines réactions peuvent être positives au cours de différentes affections dans le cadre des collagénoses et en particulier au cours du lupus érythémateux, ou au cours d'affections non rhumatismales hypergammaglobulinémiques ; sarcoïdose, trypanosomiase).

2°) **Polyarthrites rhumatoïdes à réaction sérologique négative** (129) :

Elle sont beaucoup plus rares. Il s'agit soit de polyarthrites rhumatoïdes au début de la maladie (la positivité des réactions sérologiques ne s'effectuant qu'au bout de 6 mois d'évolution), soit de polyarthrites typiques en pleine évolution.

Sur 44 malades étudiés au cours de ce travail, le sérum de 34 d'entre eux possédait le facteur rhumatoïde, 10 sujets seulement présentaient des réactions sérologiques négatives.

CARACTERES PHYSIQUES DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

Ce sont des liquides jaune clair, parfois légèrement troubles dont la quantité recueillie varie, selon les sujets, de 2 à plus de 50 ml par articulation. La viscosité est très faible par rapport à celle des liquides normaux. La viscosité

relative mesurée à 25° C par ROBINSON et SMYTH est en moyenne de 11,9 (celle des liquides normaux est de 235). Cette diminution de viscosité est attribuée à une dénaturation de la mucine (122), dont le taux est très diminué par rapport à celui des liquides normaux. Ceci se traduit également par la formation d'un précipité très friable lors de l'addition d'acide acétique. Malgré sa simplicité, ce test se révèle fort utile pour le diagnostic des arthrites inflammatoires.

ETUDE CYTOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

Nombre des éléments figurés.

Cette étude a été effectuée sur la majorité des liquides prélevés. Elle a été faite par le Docteur SOLNICA, Centre Viggo Pettersen, Clinique Rhumatologique du Professeur de SEZE, Hôpital Lariboisière.

La numération montre un chiffre élevé en cellules **(Tableau I)**, traduisant l'afflux leucocytaire dans les syndromes inflammatoires.

NOMBRE D'ELEMENTS PAR mm3	
MOYENNE *	VARIATIONS EXTREMES
15.300	1.000 - 55.000

(*) Moyenne de 34 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU I - NUMERATION DES ELEMENTS FIGURES DANS LES LIQUIDES DE POLYARTHRITE RHUMATOIDE

Ragocytes.

L'examen direct du liquide synovial de polyarthrite rhumatoïde, au microscope à contraste de phase, permet de révéler la présence de ragocytes dans tous les prélèvements **(Tableau II)**.

POURCENTAGE DE RAGOCYTES PAR RAPPORT AU NOMBRE TOTAL DE CELLULES	
MOYENNE *	VARIATIONS EXTREMES
50	10 - 84

(*) Moyenne de 30 déterminations effectuées sur des liquides différents

TABLEAU II - POURCENTAGE DE RAGOCYTES PAR RAPPORT AU NOMBRE TOTAL DE CELLULES DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

ETUDE CHIMIQUE ET ENZYMOLOGIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

— **Teneur en protéines.**

Elle est très supérieure à celle des liquides normaux. La concentration moyenne est, en effet, de 47,4 g/litre.

— **Détermination du taux de complément hémolytique.**

Cette étude est relativement récente puisqu'elle a été effectuée pour la première fois en 1964 par HEDBERG et coll. (43) en Suède. Elle a été reprise récemment par PELTIER, COSTE et DELBARRE (103). Ces auteurs notent une discordance frappante entre le taux de complément sérique élevé et le taux de complément synovial bas par rapport à celui des autres liquides inflammatoires (0 à 25 Unités/ml).

— **Détermination du taux des phosphatases acide et alcaline dans le liquide synovial d'arthrite rhumatoïde.**

Les résultats exposés au **tableau III** montrent une augmentation significative de l'activité phosphatasique acide dans tous les liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde étudiés, comparativement aux liquides témoins normaux. Tous les essais ont été effectués chez des sujets dont le taux de phosphatase acide sérique, préalablement déterminé, était normal.

PHOSPHATASE ACIDE EN UNITES POUR 100 ml DE LIQUIDE			
Liquide normal		Liquide d'arthrite rhumatoïde	
Valeur moyenne	Variations extrêmes	Valeur moyenne *	Variations extrêmes
2,8	1 - 4	9,5	6 - 13

(*) Moyenne de 8 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

TABLEAU III - COMPARAISON DE L'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ACIDE DES LIQUIDES NORMAUX ET DES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE

Par contre, comme l'indique le **tableau IV,** l'activité phosphatasique alcaline est identique dans les liquides normaux et pathologiques.

PHOSPHATASE ALCALINE EN UNITES POUR 100 ml DE LIQUIDE			
Liquide normal		Liquide d'arthrite rhumatoïde	
Valeur moyenne	Variations extrêmes	Valeur moyenne *	Variations extrêmes
2	1 - 4	2,4	1,3 - 5

(*) Moyenne de 8 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

TABLEAU IV - COMPARAISON DE L'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ALCALINE DES LIQUIDES NORMAUX ET PATHOLOGIQUES

L'étude de ces activités enzymatiques confirme les travaux de différents auteurs montrant que le taux des enzymes, d'origine lysosomiale, (β-acétyl glucosaminase, cathepsine) est plus élevé dans les liquides inflammatoires que dans les liquides normaux.

ETUDE DE LA COAGULATION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

I) ACTIVITE THROMBIQUE ET ANTITHROMBINE.

— **Activité thrombique :** Comme les liquides normaux, les liquides de polyarthrite rhumatoïde sont dépourvus d'activité thrombique.

— **Antithrombine immédiate :** Elle paraît absente de ces mêmes liquides pathologiques. En effet, l'addition de ces derniers à du plasma normal déplaquettisé n'allonge pas de façon significative le temps de thrombine de ce dernier **(Tableau V).**

REACTIFS	TEMPS DE THROMBINE DU PLASMA NORMAL (en sec.) EN PRESENCE DE :		
	Tampon	LIQUIDE SYNOVIAL	
		Non dilué	Dilué au 1/5
THROMBINE 1 unité/ml	16,5	17,5	16,5
THROMBINE 0,5 unité/ml	23,5	26,5	23,5

TABLEAU V - ABSENCE D'ANTITHROMBINE IMMEDIATE DANS LES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE

— **Antithrombine progressive :** Elle se trouve en quantité très faible dans le liquide synovial d'arthrite rhumatoïde, par rapport à celle présente dans le plasma normal **(Tableau VI).**

TEMPS D'INCUBATION (en minutes)	TEMPS DE COAGULATION DU SUBSTRAT (en secondes)		
	PLASMA DEFIBRINE	LIQUIDE SYNOVIAL DEFIBRINE	
		Moyenne *	Variations extrêmes
1	15,5	16	15,6 - 16,4
5	22,2	17	16,5 - 17,4
10	34	19,5	19 - 20
15	50	23	20 - 25

(*) Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

TABLEAU VI - ANTITHROMBINE PROGRESSIVE DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

II) FIBRINOGENE

La présence de fibrinogène n'est pas constante dans les 20 liquides d'arthrite rhumatoïde que nous avons examinés **(Tableau VII).**

20 LIQUIDES EXAMINES		
↓		↓
13 LIQUIDES		7 LIQUIDES
Absence de fibrinogène		Présence de fibrinogène à la concentration de :
	MOYENNE	VARIATIONS EXTREMES
	0,35 g/l	0,20 - 1,20 g/l

TABLEAU VII - DOSAGE DU FIBRINOGENE DANS LES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE

Dans 5 autres liquides, la présence évidente de traces de fibrine fut observée.

III) FACTEURS DU COMPLEXE PROTHROMBINIQUE.

Comme pour les liquides normaux, l'étude de ces facteurs a été faite selon deux modalités différentes.

A) DOSAGE SPECIFIQUE DES FACTEURS II, V, VII, ET X, EN PRESENCE DE THROMBOPLASTINE TISSULAIRE

La détermination a été effectuée sur 24 liquides différents. Des résultats exposés au **tableau VIII** et la **Figure 2,** il apparaît que dans les liquides d'arthrite rhumatoïde, le facteur V se montre le plus souvent absent et s'il est présent sa concentration reste très faible (inférieure à 10 %). Les autres facteurs VII, X et II s'y trouvent à un taux variable, plus élevé en général que celui des liquides normaux.

FACTEURS ETUDIES	TEMPS (en sec) EN PRESENCE DE			TAUX EN POURCENTAGE PAR RAPPORT AU PLASMA NORMAL	
	Liquide synovial		Tampon		
	Moyenne *	Variations extrêmes		Moyenne *	Variations extrêmes
Facteur V	105	50 - 120	120	2	traces - 8,5
Facteur X	35	28 - 80	103	32	traces - 62
Facteurs VII + X	70	28 - 200	> 300	23	traces - 70
Facteur II	32	22 - 70	80	13	traces - 35

(*) Moyenne de 24 déterminations effectuées sur des liquides différents

TABLEAU VIII - DOSAGE DES FACTEURS V, X, VII + X, ET II DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

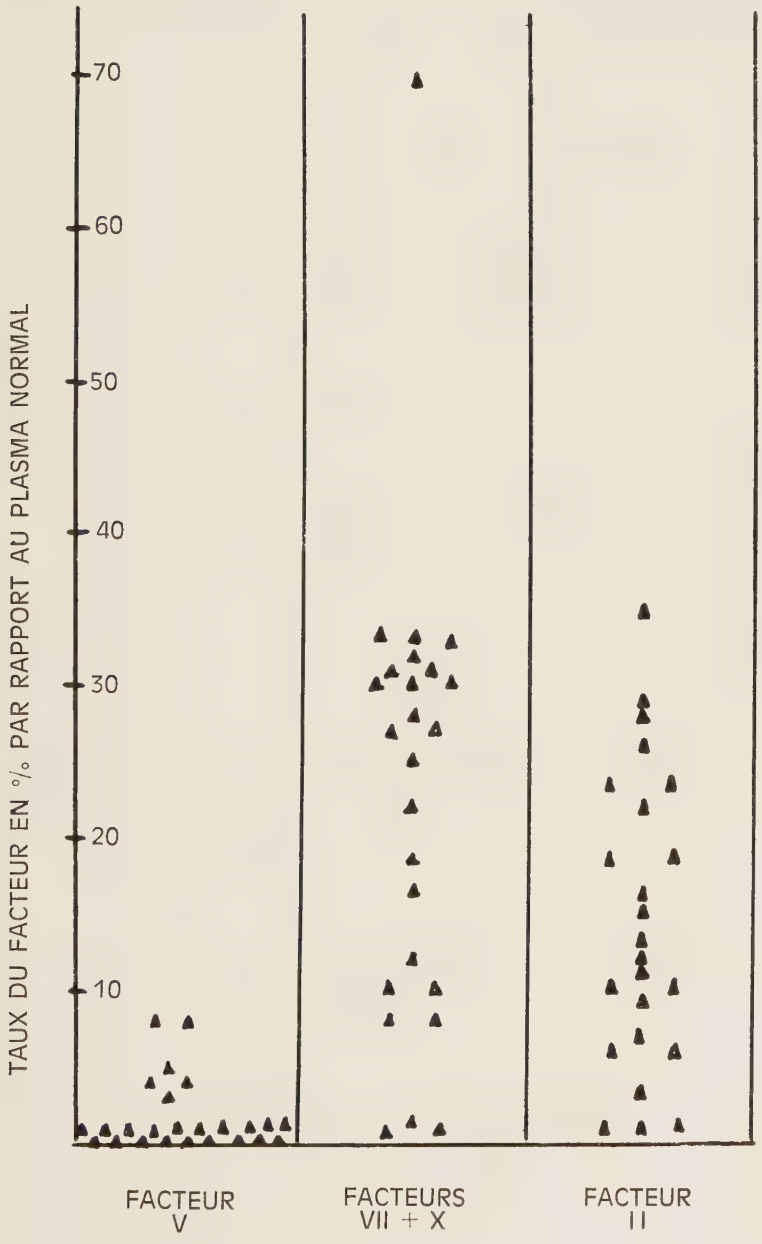


FIGURE 2 - TAUX DES FACTEURS V, VII + X ET II DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

B) ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DES PLASMAS DE DEFICIT CONGENITAL EN FACTEUR V OU X

1°) ACTION SUR LE TEMPS DE CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES

L'addition de ces liquides entraîne un raccourcissement net du temps de céphaline d'un plasma de déficit en facteur X. L'action sur les plasmas de déficit en facteur V est toujours parallèle, quoique plus atténuée **(Tableau IX).**

SUBSTRAT	TEMPS DE CEPHALINE * (en sec.) EN PRESENCE DE :						
	Plasma normal		Liquide synovial				Tampon
	Non dilué	Dilué au 1/5	Non dilué		Dilué au 1/5		
			Moy.	variat. extr.	Moy.	variat. extr.	
Plasma							
de déficit en facteur V	220	330	175	90 - 345	240	160 - 360	730
de déficit en facteur X	225	330	124	40 - 230	210	75 - 360	735

(*) Mesuré en tubes siliconés.

TABLEAU IX - ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR V OU X

Les données exposées au Tableau IX montrent que les résultats varient dans de larges proportions, et de ce fait, nous avons pu séparer ces liquides synoviaux en deux groupes pour une étude ultérieure :

— **groupe 1 :** liquides à « activité coagulante » modérée.

— **groupe 2 :** liquides à « activité coagulante » importante (temps de céphaline en présence d'un plasma de déficit en facteur X égal ou inférieur à 90 secondes).

La répartition des liquides étudiés est la suivante : 43 % dans le groupe 1, et 57 % dans le groupe 2.

2°) ESSAIS DE DOSAGE DES FACTEURS V ET X
(PAR LA METHODE UTILISANT LA CEPHALINE ET LE KAOLIN)

a) *Liquides du groupe 1.*

Les taux trouvés sont en accord avec ceux fournis par la technique en un temps en présence de thromboplastine tissulaire **(Tableau X).**

METHODE	TAUX DE FACTEUR V (en pourcentage par rapport au plasma normal)	TAUX DE FACTEUR X (en pourcentage par rapport au plasma normal)
En présence de thromboplastine	0	35
En présence de céphaline + kaolin	0	35

TABLEAU X - COMPARAISON DES TAUX DE FACTEURS V ET X OBTENUS PAR DEUX METHODES DIFFERENTES DANS UN MEME LIQUIDE DU GROUPE I

b) *Liquides du groupe 2* (doués d'une « activité » coagulante importante).

Il apparaît, comme le montre le **Tableau XI,** une discordance entre les résultats fournis par la méthode en présence thromboplastine tissulaire et par celle en présence de céphaline et de kaolin.

METHODE	TAUX DE FACTEUR V (en pourcentage par rapport au plasma normal)	TAUX DE FACTEUR X (en pourcentage par rapport au plasma normal)
En présence de thromboplastine	0	30
En présence de céphaline + kaolin	23	50

TABLEAU XI - COMPARAISON DES TAUX DE FACTEURS V OU X OBTENUS PAR DEUX METHODES DIFFERENTES DANS UN MEME LIQUIDE DU GROUPE 2

Cette donnée permet de conclure à l'existence d'une « activité coagulante forte » dont l'action paraît interférer dans le dosage des facteurs V et X en l'absence de thromboplastine tissulaire.

IV) FACTEURS DE LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE.

A) ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LA THROMBOPLASTINOFORMATION ENDOGENE GLOBALE D'UN PLASMA NORMAL

L'addition de ces liquides synoviaux à une mixture de thromboplastinoformation endogène (test de HICKS et PIT-

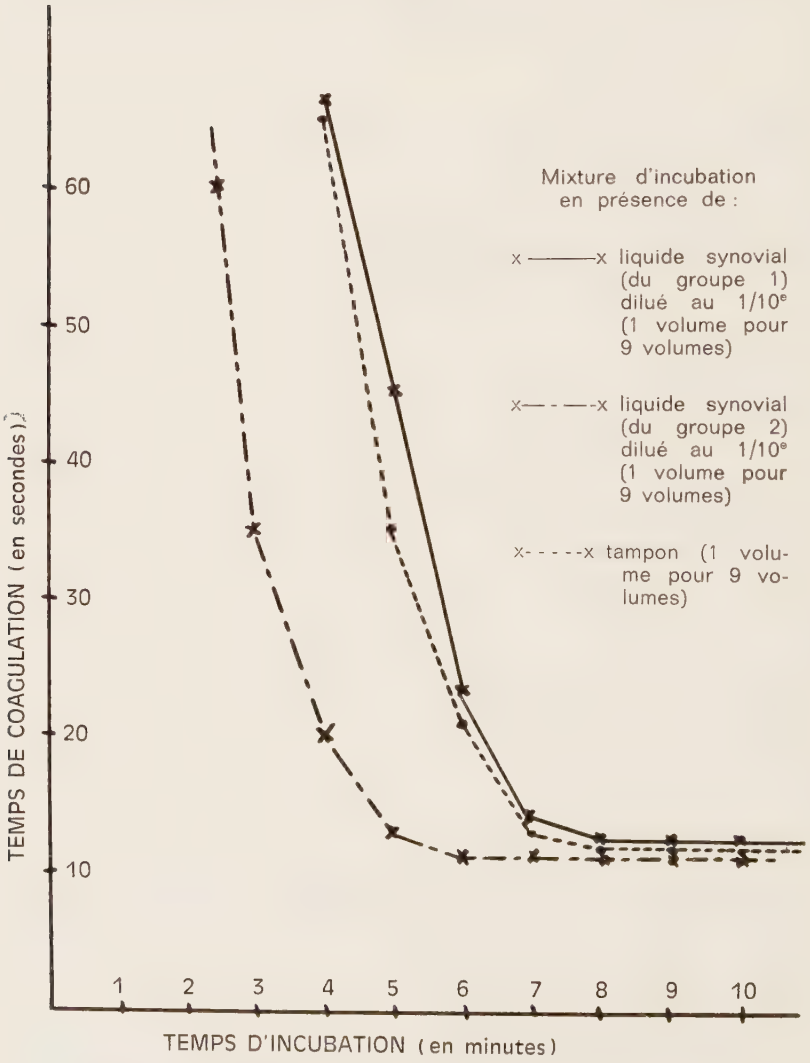


FIGURE 3 - ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LA GENERATION DE THROMBOPLASTINE ENDOGENE D'UN PLASMA NORMAL

NEY) a un effet variable **(Figure 3)**. L'addition des liquides du groupe 1, précédemment défini, n'entraîne ni accélération, ni augmentation de la prothrombinase dans les conditions utilisées. Au contraire, l'addition des liquides du groupe 2 entraîne une accélération de la thromboplastinoformation, sans augmentation réelle de la prothrombinase générée.

B) ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE-KAOLIN D'UN PLASMA NORMAL

De même, seuls les liquides appartenant au groupe 2 entraînent un raccourcissement du temps de céphaline-kaolin d'un plasma normal **(Tableau XII)**.

TEMPS DE CEPHALINE-KAOLIN D'UN PLASMA NORMAL (en secondes) EN PRESENCE DE :		
Liquide synovial non dilué du groupe 2	Liquide synovial non dilué du groupe 1	Tampon citraté
30	62	63

TABLEAU XII - TEMPS DE CEPHALINE-KAOLIN D'UN PLASMA NORMAL EN PRESENCE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

C) ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEUR XII, IX OU VIII.

1°) ACTION SUR LE TEMPS CEPHALINE MESURE EN TUBES SILICONES

Les résultats exposés au **tableau XIII** montrent que l'addition des liquides non dilués du groupe 1, aux plasmas de déficit en facteur XII, IX ou VIII entraîne un raccourcissement net du temps de céphaline de ces plasmas. L'action des liquides du groupe 2 est beaucoup plus importante, les temps obtenus sont voisins de ceux observés lorsque le plasma de déficit en facteur X est utilisé comme substrat.

SUBSTRAT	TEMPS DE CEPHALINE *(en secondes) EN PRESENCE DE					
	Liquide synovial non dilué				Plasma normal non dilué	Tampon
	Du groupe 1		Du groupe 2			
	Moy.	Variations extrêmes	Moy.	Variations extrêmes		
Plasma de déficit						
En facteur XII	180	170 - 200	60	41 - 70	315	840
En facteur IX	195	180 - 220	60	42 - 68	330	990
En facteur VIII	230	190 - 250	58	42 - 65	330	1260

(*) Mesuré en tubes siliconés.

TABLEAU XIII - ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE, EN TUBES SILICONES, DE PLASMAS DE DEFICIT EN FACTEURS XII, IX ET VIII

2°) ESSAI DE DOSAGE DES FACTEURS XII, IX ET VIII

Les déterminations ont été effectuées par la technique spécifique en un temps (87, 136).

a) Facteur XII

La correction du temps de céphaline-kaolin d'un plasma de déficit congénital total en facteur XII par le liquide synovial dilué au 1/40e est importante et variable selon les liquides. La correction apportée par les liquides du groupe 1 (précédemment défini) est voisine de celle induite par le plasma normal également dilué au 1/40e, « l'activité XII » de ces liquides est de 45 à 100 % (par rapport au plasma normal de référence). Par contre, « l'activité XII » des liquides du groupe 2 est beaucoup plus importante, et est nettement supérieure à celle du plasma témoin **(Tableau XIV)** et **(figure 4)**.

TEMPS DE CEPHALINE-KAOLIN (en secondes) D'UN PLASMA DE DEFICIT EN FACTEUR XII EN PRESENCE DE :							« ACTIVITE XII » EN POURCENTAGE PAR RAPPORT AU PLASMA NORMAL			
PLASMA NORMAL ***		LIQUIDE SYNOVIAL **				TAMPON	LIQUIDE SYNOVIAL			
		GROUPE 1		GROUPE 2			GROUPE 1		GROUPE 2	
Moyenne	Variations extrêmes	Moyenne*	Variations extrêmes	Moyenne **	Variations extrêmes		Moyenne	Variations extrêmes	Moyenne	Variations extrêmes
154	122 - 182	170	140 - 200	105	80 - 130	450	71	45 - 100	290	120 - 600

(*) Moyenne de 16 déterminations effectuées sur des liquides différents.

(**) Moyenne de 12 déterminations effectuées sur des prélèvements différents.

(***) Plasma normal et liquide synovial dilué au 1/40e.

TABLEAU XIV - DOSAGE DU FACTEUR XII DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX DE POLYARTHRITE RHUMATOIDE

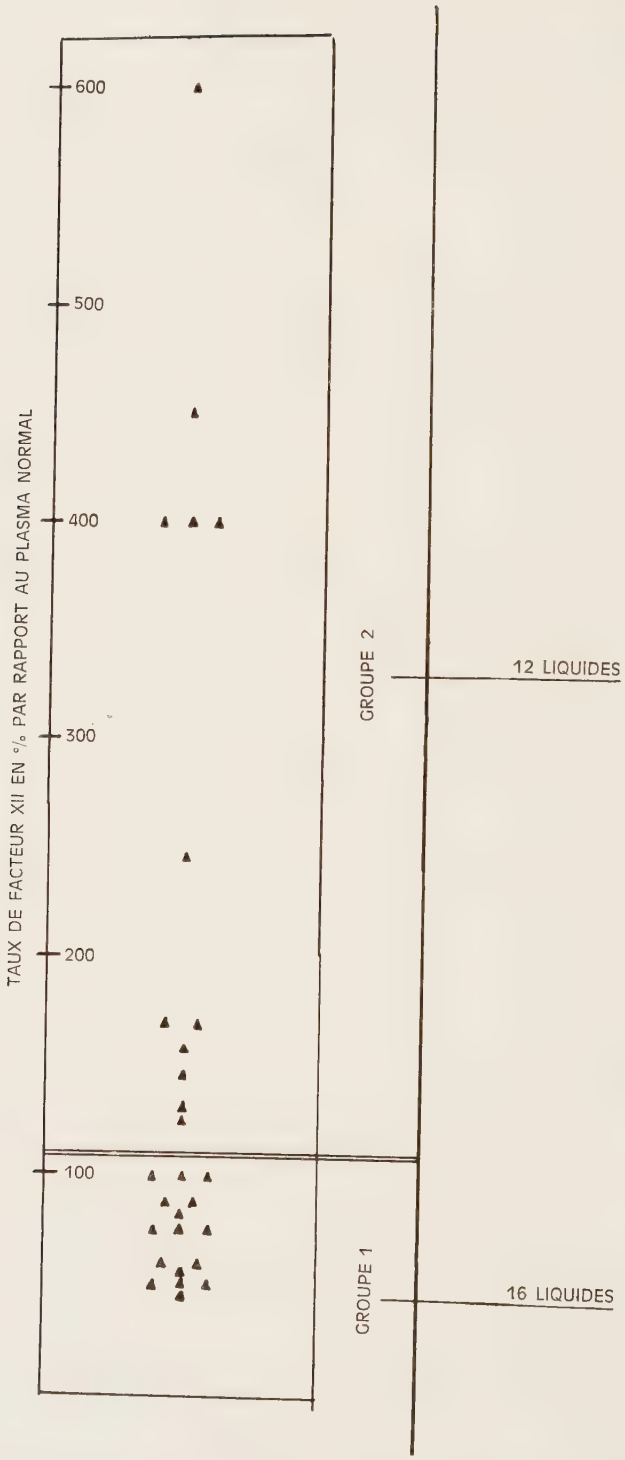


FIGURE 4 - DOSAGE DU FACTEUR XII DANS LES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE. REPARTITION DES DIFFERENTS LIQUIDES

b) Facteurs antihémophiliques A et B

La correction du temps de céphaline-kaolin d'un plasma de déficit congénital en facteur VIII ou IX dans les liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde dilué au 1/40e est variable

Tableau XV)

SUBSTRAT	TEMPS DE CEPHALINE (en secondes) D'UN PLASMA D'HEMOPHILIE A ou B EN PRESENCE DE :					ACTIVITE EN POURCENTAGE PAR RAPPORT AU PLASMA NORMAL	
		LIQUIDE SYNOVIAL ***				LIQUIDE SYNOVIAL	
	Plasma normal ***	GROUPE 1		GROUPE 2	TAMPON	GROUPE I	GROUPE 2
		Moyenne *	Variations extrêmes	Moyenne ** Variations extrêmes			
Plasma de déficit en							
Facteur VIII	140	240	200 - 280	— < 100 - 140	280	traces - 30	100 - 1000
Facteur IX	135	212	180 - 235	— < 100 - 135	345	5 - 30	100 - 1000

(*) Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des liquides différents.

(**) Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des liquides différents.

(***) Plasma normal et liquide synovial dilués au 1/40e.

TABLEAU XV - ESSAIS DE DOSAGE DES FACTEURS VIII ET IX DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE RHUMATOIDE

L'activité des liquides du groupe 1 est modérée, très inférieure à celle du plasma normal de référence, puisque les taux de facteurs VIII et IX sont compris entre traces et 30 %. Par contre, l'activité des liquides du groupe 2 reste importante et très supérieure à celle du plasma témoin. Cette « activité coagulante » semble parallèle à celle exercée par les mêmes liquides sur les plasmas de déficit en facteur XII.

En conclusion, « l'activité coagulante » importante des liquides du groupe 2 sur les plasmas de déficit en facteurs X et V s'observe également sur les plasmas de déficit en facteurs XII, IX et VIII, ce qui justifie notre classification en deux groupes. Nous avons prouvé que cette « activité coagulante » interfère dans le dosage des facteurs X et V lorsque celui-ci est effectué en présence de céphaline et de kaolin. Il nous a semblé intéressant d'étudier ses caractères.

V) CARACTERES DE L'ACTIVITE COAGULANTE DES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE.

A) SPECIFICITE DU DOSAGE DU FACTEUR XII DANS LES LIQUIDES SYNOVIAUX

L'ensemble des données analytiques nouvelles, que nous avons précédemment rapporté, permet de conclure à l'existence d'une « activité coagulante » importante dans certains liquides d'arthrite rhumatoïde. Le liquide synovial normal contenant des quantités non négligeables de facteur XII, nous avons tenté de préciser si cette « activité coagulante » pouvait être expliquée essentiellement par la présence de facteur Hageman activé dans les liquides pathologiques. Si cette hypothèse était exacte, le facteur XII activé devrait alors être spécifiquement neutralisé par le sérum anti-facteur Hageman ; ainsi serait supprimée l'activité coagulante constatée sur le plasma de déficit en ce facteur. Dans le cas contraire, la neutralisation par l'antisérum serait nulle ou partielle.

1°) LIQUIDES DU GROUPE 1 (activité coagulante modérée)

Les études ont été effectuées parallèlement avec :

— un plasma normal ;

— « un réactif Hageman » : sérum de déficit congénital en facteur PTA, adsorbé par le phosphate tricalcique et chauffé 56° C. Il possède uniquement le facteur XII (voir chapitre Matériel et Méthodes) ;

— un liquide synovial non traité ;

— un liquide synovial adsorbé et chauffé dans des conditions identiques à celles utilisées pour la préparation du réactif Hageman.

Les résultats exposés au **tableau XVI** font apparaître les faits suivants :

- Après une incubation de 1 heure à 37° C et de 18 heures à +4° C du réactif Hageman avec l'antisérum, l'activité XII de ce réactif s'abaisse de 80 % à moins de 5 %, traduisant la neutralisation spécifique de l'activité XII par le sérum antifacteur Hageman. Cette neutralisation ne se produit pas avec le contrôle (sérum de lapin normal).
- Les mêmes résultats sont obtenus en présence de plasma normal, puisque le taux de facteur XII passe de 78 à 23 %.
- De même, l'activité XII du liquide synovial, adsorbé par le phosphate tricalcique et chauffé à 56° C (afin de conserver uniquement le facteur XII), est totalement neutralisée par l'antisérum puisqu'elle passe de 48 % à l'état de traces. Comme pour le réactif Hageman, cette neutralisation n'a pas lieu en présence de sérum normal de lapin dépourvu de facteur XII : l'activité demeure sensiblement constante entre 45 et 50 % (contrôle).
- Le liquide synovial non traité se comporte comme le plasma témoin, puisque le taux de facteur XII après neutralisation, s'abaisse de 60 à 18 %.

Donc, la correction du temps de coagulation d'un plasma de déficit en facteur XII, par les liquides synoviaux dilués appartenant au groupe 1, est essentiellement dûe au facteur Hageman puisque inhibée par l'antisérum spécifique.

MIXTURES D'INCUBATION	Temps de céphaline kaolin (en secondes) d'un plasma de déficit en facteur XII en présence des différentes mixtures diluées au 1/10	Activité XII résiduelle après les différentes incubations dans le réactif Hageman, dans le plasma normal ou dans le liquide étudié (exprimé en pourcentage par rapport au plasma témoin) *
A) **Sérum de lapin antifacteur XII + volume égal de :**		
— Tampon	510	< 1
— Plasma dilué au 1/4	295	23
— Réactif Hageman dilué au 1/4	450	< 5
— Liquide synovial, non traité, dilué au 1/4	320	18
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	470	< 5
B) **Sérum de lapin normal dépourvu de facteur XII + volume égal de :**		
— Tampon	530	< 1
— Plasma dilué au 1/4	190	78
— Réactif Hageman dilué au 1/4	187	80
— Liquide synovial, non traité, dilué au 1/4	210	60
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	225	48
C) **Tampon + volume égal de :**		
— Tampon	540	1
— Plasma dilué au 1/4	——	——
— Réactif Hageman dilué au 1/4	190	80
— Liquide synovial, non traité, dilué au 1/4	212	58
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	228	46

(*) La dilution au 1/80e du plasma témoin est considérée arbitrairement comme le 100 %. Le calcul tient compte de la dilution finale (au 1/80e) du réactif Hageman, du plasma ou du liquide étudié.

TABLEAU XVI - ETUDE DE LA NEUTRALISATION DU FACTEUR XII, PAR LE SERUM ANTI-FACTEUR XII, DANS LES LIQUIDES DE POLYARTHRITE RHUMATOIDE DU GROUPE 1, DANS LE REACTIF HAGEMAN ET DANS LE PLASMA TEMOIN

2°) LIQUIDES DU GROUPE 2

Une série d'expériences, comparable à l'étude précédente, a été réalisée sur les liquides du groupe 2, à activité coagulante forte, et a fourni les résultats exposés dans le **tableau XVII.**

- Après une incubation de 1 heure à 37° C et de 18 heures à + 4° C en présence du sérum anti-facteur XII, l'activité coagulante du liquide synovial ne disparaît pas, puisque après incubation dans les mêmes conditions avec le sérum normal de lapin, l'activité XII est pratiquement semblable.

- L'absence d'action de l'antisérum ne peut pas être attribuée à un excès de facteur XII dans le liquide, car l'expérience a également été réalisée avec un liquide préalablement dilué de façon que le taux de facteur XII soit ramené aux environs de 100 %. Même dans ces conditions, l'incubation avec l'antisérum ne modifie pas l'activité coagulante qui reste identique à la valeur précédente.

  Par contre, une neutralisation partielle s'observe lorsque l'incubation avec l'antisérum est effectuée à partir de liquide synovial chauffé et adsorbé. C'est ainsi que « le taux de Facteur XII mesuré » passe de 210 à 160 % avec le liquide utilisé dans les conditions habituelles, et de 60 à 35 % avec le liquide dilué.

  En conclusion, dans le liquide synovial du groupe 2, à côté du facteur XII il existe un produit différent, puisque non neutralisé par l'antisérum spécifique, qui vient influencer le dosage du facteur. Il est en effet difficile de faire la part entre l'action coagulante de ce produit et le contenu réel en facteur XII.

MIXTURES D'INCUBATION	Temps de céphaline kaolin (en secondes) d'un plasma de déficit en facteur XII en présence des différentes mixtures diluées au 1/10	Activité XII résiduelle, après incubation, dans les différentes mixtures en pourcentage par rapport au plasma normal *
Plasma normal dilué au 1/4 + tampon	160	100
A) **Sérum de lapin antifacteur XII + volume égal de :**		
— Tampon	510	< 1
— Réactif Hageman dilué au 1/4	420	< 5
— Liquide synovial dilué au 1/4	105	400
1/8	132	200
1/16	170	105
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	152	160
1/8		
1/16	242	35
B) **Sérum de lapin normal dépourvu de facteur XII + volume égal de :**		
— Tampon	530	< 1
— Réactif Hageman dilué au 1/4	180	80
— Liquide synovial dilué au 1/4	105	400
1/8	135	190
1/16	170	105
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	130	210
1/8		
1/16	197	60
C) **Tampon + volume égal de :**		
— Tampon	540	< 1
— Réactif Hageman dilué au 1/4	180	80
— Liquide synovial dilué au 1/4	110	350
— Liquide synovial, adsorbé et chauffé, dilué au 1/4	135	220

(*) Le calcul tient compte de la dilution finale.

TABLEAU XVII - ACTION DU SERUM ANTI-FACTEUR XII SUR « L'ACTIVITE XII » DES LIQUIDES SYNOVIAUX DU GROUPE 2

B) EFFET DE CHAUFFAGE ET DE L'ADSORPTION PAR LES SUBSTANCES HABITUELLES

Le support de cette activité coagulante mise en évidence dans les liquides d'arthrite rhumatoïde du groupe 2, ne disparaît pas totalement après chauffage et adsorption. En effet, comme il a été prouvé précédemment, ces liquides, soumis à un tel traitement puis incubés en présence du sérum anti-facteur Hageman, conservent une activité coagulante sur les plasmas de déficit en facteur XII. De même, le chauffage à 56° C de ces liquides n'élimine pas la totalité de leur activité coagulante sur les plasmas d'hémophile A. Celle-ci ne peut pas être attribuée au facteur VIII thermolabile **(Tableau XVIII)**.

Par contre, un chauffage identique des liquides du groupe 1 fait disparaître toutes traces de facteur VIII **(Tableau XVIII)** ; ce résultat concorde avec l'expérience précédente prouvant l'absence, dans les prélèvements du groupe 1, de produits interférant dans les dosages spécifiques.

TEMPS DE CEPHALINE KAOLIN (en secondes) D'UN PLASMA D'HEMOPHILE A EN PRESENCE DE :			
PLASMA NORMAL CHAUFFE *	LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHRITE RHUMATOIDE CHAUFFE		TAMPON
	Groupe 1*	Groupe 2 **	
300	300	140 - 245	300

(*) Plasma et liquides du groupe 1 chauffés puis dilués au 1/10e.
(**) Liquides du groupe 2 chauffés puis dilués au 1/40e.

TABLEAU XVIII - ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX DES GROUPES 1 ET 2, CHAUFFES A 56° C, SUR LE TEMPS DE CEPHALINE KAOLIN D'UN PLASMA D'HEMOPHILE A

C) ACTIVITE ESTERASTIQUE NON SPECIFIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX

L'étude de l'activité estérasique a en outre été envisagée, car selon certains auteurs, le facteur contact se comporte comme une estérase (95, 124), mais cette opinion est discutée par SPEER (140). De plus, des enzymes à activité estérasique agissent comme enzymes protéolytiques sur cer-

tains facteurs de coagulation qu'ils transforment en facteurs activés. L'exemple le plus caractéristique concerne la trypsine.

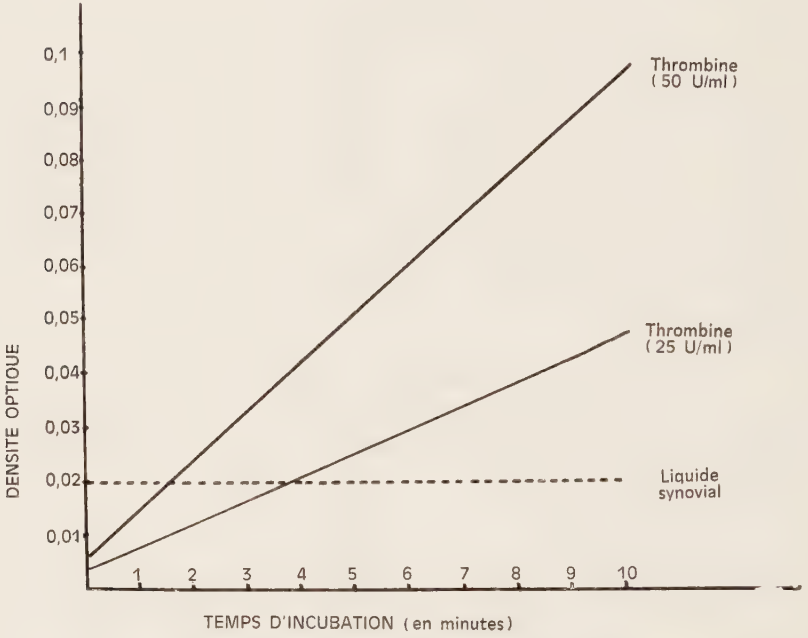


FIGURE 5 - ACTIVITÉ ESTÉRASIQUE (Sur BAME) DU LIQUIDE SYNOVIAL ET DE LA THROMBINE

Les liquides synoviaux normaux et ceux d'arthrite rhumatoïde (des groupes 1 et 2) n'hydrolysent pas à pH 7,5 (condition nécessaire aux réactions enzymatiques de la coagulation) l'ester méthylique de la benzoyl arginine (BAME). La réaction a été contrôlée et étalonnée par la cinétique de l'hydrolyse de cet ester en benzoylarginine en présence de quantités croissantes de thrombine, comme il est indiqué à la **figure 5.** Donc, les liquides normaux et pathologiques ne présentent pas d'activité estérasique à pH 7,5. Cette expérience confirme, en même temps, l'absence de thrombine dans ces prélèvements.

D) COMPARAISON DE L'ACTIVITE COAGULANTE DES LIQUIDES SYNOVIAUX D'ARTHRITE AVEC CELLE D'UNE THROMBOPLASTINE TISSULAIRE

L'action des liquides synoviaux du groupe 2 sur le temps de céphaline de différents plasmas de déficits congé-

nitaux a été comparée à l'activité d'une thromboplastine tissulaire d'origine humaine diluée au 1/25e.

Comme le montrent les résultats exposés au **tableau XIX,** les liquides du groupe 2 présentent une activité semblable à la thromboplastine tissulaire sur les temps de coagulation des plasmas de déficit en facteur XII, XI, IX, VIII ou V et une activité supérieure sur les temps de coagulation des plasmas de déficit en facteur X ou VII. Cette activité est donc ici analogue à celle du facteur X activé.

MATERIEL CORRECTEUR	TEMPS DE CEPHALINE (en secondes) DE PLASMAS DEFICITAIRES EN FACTEUR :						
	XII	XI	IX	VIII	X	VII	V
Liquide synovial non dilué	41	42	45	42	45	48	98
Thromboplastine diluée au 1/25	41	44	60	44	215	193	100
Tampon	840	300	900	850	730	370	345

TABLEAU XIX - ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL ET DE LA THROMBOPLASTINE TISSULAIRE SUR LE TEMPS DE CEPHALINE DE DIFFERENTS PLASMAS PATHOLOGIQUES

E) ACTION DES LIQUIDES SYNOVIAUX SUR LA PROTHROMBINE PURIFIEE

Nous avons étudié l'activité sur la prothrombine purifiée en présence de fibrinogène humain (voir chapitre Matériel et Méthodes) :

— du liquide synovial de polyarthrite rhumatoïde du groupe 2

— du liquide synovial de polyarthrite rhumatoïde du groupe 1

— du liquide normal

— de la thromboplastine tissulaire (incomplète) diluée au 1/25e

— du facteur X activé.

Nous avons également observé cette activité en présence de facteur V avec ou sans céphaline. L'ensemble des résultats se trouve consigné dans le **tableau XX.**

MIXTURE	Réactif à tester ajouté (volume exprimé en ml)	Matériel ajouté facteur V	Matériel ajouté céphaline	Temps de coagulation (en minutes) en présence de calcium M/40
Fibrinogène adsorbé 0,1 + Prothrombine 0,1	Tampon 0,1	—	—	> 60
		0,05	—	> 60
		0,05	0,05	> 60
idem.	Liquide normal 0,1	—	—	> 60
		0,05	—	45
		0,05	0,05	27
idem.	Liquide d'Arthrite rhumatoïde du groupe 1 : 0,1	—	—	50
		0,05	—	16
		0,05	0,05	7,5
idem.	Liquide d'Arthrite rhumatoïde du groupe 2 : 0,1	—	—	8
		0,05	—	1,30
		0,05	0,05	1,20
idem.	Facteur X activé 0,1	—	—	3,30
		0,05	—	1,10
		0,05	0,05	1,05
idem.	Thromboplastine au 1/25e 0,1	—	—	> 60
		0,05	—	47
		0,05	0,05	46
idem.	Plasma témoin 0,1	—	—	10
		0,05	—	7
		0,05	0,05	5,30

TABLEAU XX - COMPARAISON ENTRE L'ACTION DU LIQUIDE SYNOVIAL (NORMAL, D'ARTHRITE RHUMATOIDE DES GROUPES 1 ET 2), DE LA THROMBOPLASTINE ET DU FACTEUR X ACTIVE SUR LA PROTHROMBINE PURIFIEE

Ainsi il apparaît que :

— Le liquide normal, en l'absence de proaccélérine, ne produit pas de coagulation du système. En présence de facteur V, additionné ou non de céphaline, la formation de thrombine est lente. Ces faits concordent avec la faible teneur du liquide en principaux facteurs de coagulation, et avec l'absence totale de facteur V.

— Pour les liquides d'arthrite rhumatoïde du groupe 1 (groupe à activité coagulante modérée), la nécessité de l'addition du facteur V à la mixture est évidente, puisque le temps de coagulation passe de 50 minutes à 16 minutes en présence de ce facteur. Dans ce cas, la coagulation, relativement lente (par rapport à celle observée avec le plasma témoin), traduit la présence des différents facteurs de la thromboplastinoformation en quantité modérée, observation qui correspond à nos données antérieures.

— Pour les liquides du groupe 2, l'action est voisine de celle du facteur X activé, puisque la prothrombine purifiée est rapidement transformée en thrombine, coagulant le fibrinogène de la mixture. De plus, l'addition du facteur V augmente l'action coagulante. Cette activité est différente de celle de la thromboplastine tissulaire partielle qui ne transforme pas la prothrombine dans ces conditions expérimentales. Ainsi, nous pouvons conclure que dans ces derniers liquides l'activité coagulante forte, capable de corriger de façon importante les temps de recalcification de plasmas de déficit congénital total en facteur XII, XI, IX, VIII, X ou VII, peut être attribuée à la présence d'une substance analogue au facteur X activé ou thrombokinase de MILSTONE qui court-circuite la cascade (dans la conception actuelle de la thromboplastinoformation de Mac FARLANE) et qui rend difficilement interprétable le dosage des facteurs XII, XI, IX et VIII.

VI) ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX DE POLYARTHRITE RHUMATOIDE - COMPARAISON AVEC CELLE DES LIQUIDES NORMAUX.

Après avoir étudié les rapports entre la coagulation et les liquides synoviaux, il nous a paru intéressant de préciser l'activité fibrinolytique de ces derniers.

A) ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE LIBRE GLOBALE

Les liquides synoviaux normaux et ceux d'arthrite rhumatoïde déterminent sur plaques standard de fibrine une lyse superficielle de surface moyenne de 9 mm2 (écart extrême 0-16 mm2). La dilution au 1/2 du liquide synovial fait disparaître la totalité de l'activité lytique.

B) ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE SUR PLAQUES DE FIBRINE CHAUFFEES : DETERMINATION DE LA PLASMINE

Ces mêmes liquides synoviaux paraissent dépourvus de plasmine libre, car ils n'entraînent pas de lyse de la fibrine chauffée.

C) ACTION DE LA STREPTOKINASE

L'incubation préalable des liquides synoviaux avec de la streptokinase (200 U par ml), fait apparaître une activité lytique importante sur plaques de fibrine standard. La surface lysée est similaire dans les liquides normaux et inflammatoires. Elle témoigne de la présence dans le liquide synovial d'une substance analogue au proactivateur plasmatique à une concentration sensiblement identique à celle du plasma **(Tableau XXI).**

LYSE SUR PLAQUES STANDARD DE FIBRINE (en mm2) EN PRESENCE DE :				
PLASMA NORMAL + STREPTOKINASE	LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL + STREPTOKINASE		LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHRITE RHUMATOIDE + STREPTOKINASE	
	Moyenne *	Variations extrêmes	Moyenne **	Variations extrêmes
625	625	500 - 800	650	400 - 900

(*) Moyenne de 4 déterminations effectuées sur des liquides différents.
(**) Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU XXI - ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE SUR PLAQUES STANDARD DE FIBRINE DES LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX ET D'ARTHRITE RHUMATOIDE, EN PRESENCE DE STREPTOKINASE

D) ACTION DE L'UROKINASE. ETUDE DES INHIBITEURS DE L'ACTIVATION DU PLASMINOGENE

Le pouvoir fibrinolytique de l'urokinase, sur plaques standard de fibrine, est étudié après incubation de cet activateur avec différents liquides synoviaux (voir chapitre Matériel et Méthodes). La surface de lyse induite par l'urokinase n'est pas modifiée en présence des liquides normaux, mais est très réduite voir même nulle en présence d'un grand nombre de liquides de polyarthrite rhumatoïde **(Tableau**

XXII). Cette observation permet de conclure à la présence, dans ces derniers prélèvements, d'un inhibiteur de l'activation du plasminogène en plasmine.

LYSE SUR PLAQUES STANDARD DE FIBRINE (en mm2) INDUITE PAR L'UROKINASE EN PRESENCE DE :				
LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL		LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHRITE RHUMATOIDE		TAMPON
Moyenne *	Variations extrêmes	Moyenne **	Variations extrêmes	
144	100 - 186	25	0 - 100	144

(*) Moyenne de 4 déterminations effectuées sur des liquides différents.

(**) Moyenne de 7 déterminations effectuées sur des liquides différents.

TABLEAU XXII - ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE DE L'UROKINASE EN PRESENCE DE LIQUIDES SYNOVIAUX NORMAUX ET D'ARTHRITE RHUMATOIDE

VII) EN RESUME.

Comparativement aux liquides normaux, les liquides de polyarthrite rhumatoïde présentent une viscosité faible en rapport avec la diminution de la mucine, une concentration protéique élevée, un nombre important de leucocytes avec un fort pourcentage de ragocytes, et un taux de phosphatase acide très augmenté traduisant la libération du contenu lysosomial des cellules.

L'étude de la fibrinolyse des différents liquides nous permet de formuler les conclusions suivantes : si les prélèvements normaux et pathologiques montrent certaines analogies, comme l'absence d'activité lytique libre (plasmine et activateurs), ils présentent un caractère différentiel important puisque dans la majorité des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde un inhibiteur de l'activation du plasminogène en plasmine (n'existant pas dans les liquides normaux) a été détecté.

L'action du liquide synovial d'arthrite rhumatoïde sur la coagulation nous a conduit à une répartition des liquides en deux groupes :

Dans les liquides du groupe 1, une activité coagulante est mise en évidence, mais celle-ci reste modérée. L'addition de ces liquides non dilués entraîne un raccourcissement prononcé des temps de coagulation, en tubes siliconés, des plasmas de déficit en facteurs XII, XI, IX, VIII, X et V. Comme pour les liquides de goutte ou d'arthrose, cet effet peut être attribué à la présence en quantité assez importante de facteur Hageman partiellement activé dans le liquide. Cette activité faible n'interfère pas cependant avec le dosage spécifique des différents facteurs. Ainsi :

— le taux de facteur X ou V se montre identique lorsque la détermination a été effectuée par deux méthodes différentes.

— La neutralisation de « l'activité XII » par un antisérum spécifique est totale prouvant ainsi l'existence réelle du facteur XII dans le liquide synovial et la spécificité du dosage.

De l'examen des résultats, il ressort que : le facteur V est absent de ces liquides. Le taux des facteurs antihémophiliques reste faible peu différent du taux trouvé dans les liquides synoviaux normaux. Par contre, les facteurs XII, X, VII et II sont présents à des concentrations en général supérieures à celles des liquides normaux. Cette augmentation est surtout marquée pour le facteur XII.

Dans les liquides du groupe 2, une activité coagulante très marquée est mise en évidence. En effet, l'addition du liquide synovial entraîne un raccourcissement très important des temps de coagulation des plasmas de déficit en facteur XII, XI, IX, VIII ou X, et même du plasma normal, ainsi qu'une accélération de la thromboplastinoformation endogène de ce plasma normal. La réduction du temps de céphaline du plasma de déficit en facteur V, en présence de ces liquides, se montre plus modérée. Cette activité coagulante paraît interférer avec les méthodes classiques des dosages des facteurs XII, IX et VIII rendant difficile la détermination du taux réel de chacun de ces facteurs. En effet :

— les taux de facteur X ou V sont en discordance lorsqu'ils sont déterminés par deux méthodes différentes :

l'activité réelle déduite de la méthode en présence de thromboplastine tissulaire est constamment inférieure à celle trouvée par la méthode utilisant la céphaline et le kaolin.

— Après chauffage à 56° C pendant 30 minutes, les liquides synoviaux dilués du groupe 2 exercent encore une activité sur le temps de céphaline-kaolin des plasmas d'hémophile A. Cet effet ne peut pas être attribué au facteur VIII, thermolabile.

— Enfin et surtout, cette « activité coagulante » ne peut être expliquée par la seule présence du facteur XII activé puisqu'elle n'est pas neutralisée par un antisérum spécifique. Dans ces conditions, les résultats donnés par une méthode en un temps ne peuvent être interprétés en terme d'activité XII.

Nous avons tenté de préciser certains caractères de « l'activité coagulante » intervenant dans les différentes réactions utilisées. Les liquides sont apparemment dépourvus d'activité thrombique et d'activité estérasique non spécifique. Par contre, leur addition à une solution de prothrombine purifiée, dépourvue d'activateur, entraîne la formation de thrombine et donc la coagulation en présence de fibrinogène. L'adjonction d'accélérine et de céphaline augmente cette génération de thrombine. L'activité des liquides synoviaux du groupe 2 paraît être analogue à celle du facteur X activé dans les séquences de la thromboplastinoformation.

QUATRIEME PARTIE

CONFRONTATION DES RESULTATS DISCUSSION

Au terme de ce travail sur le liquide synovial, il nous a paru intéressant :

— de comparer les résultats des analyses effectuées d'une part sur les liquides normaux et d'autre part sur les différents liquides pathologiques (provenant de sujets souffrant d'affections articulaires diverses : arthrose et arthrites inflammatoires de la goutte ou de la polyarthrite rhumatoïde),

— de confronter pour un même groupe de liquides les différents résultats biologiques,

— d'étudier le rapport éventuel entre les acquisitions biologiques et les données de la clinique humaine.

CARACTERES PHYSIQUES DES LIQUIDES SYNOVIAUX.

Nos observations confirment celles des différents auteurs. Les liquides inflammatoires, quelle que soit leur origine, ont comparativement aux liquides normaux une viscosité très diminuée en rapport avec la dégradation de la mucine. L'aspect du précipité, obtenu par addition d 'acide acétique, renseigne également sur l'état de ce constituant. Ainsi, ce précipité se présente soit sous forme d'une masse gélatineuse de consistance ferme dans les liquides normaux et dans ceux provenant d'arthropathies dégénératives, soit sous forme d'un réseau tenu et facilement dissociable dans les liquides prélevés chez des malades atteints d'arthrite inflammatoire.

CONSTITUTION CHIMIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX

La concentration en protéines des liquides normaux synoviaux est constamment inférieure à celle des liquides pathologiques. Cette variation serait en rapport avec l'augmentation de la perméabilité vasculaire observée au cours des réactions inflammatoires. Quoiqu'il en soit, aucune corrélation ne paraît exister entre la teneur en protéines et la gravité de l'atteinte articulaire.

Plus intéressante, nous a semblé être la détermination du taux de phosphatase acide, enzyme d'origine lysosomiale ; l'augmentation de cette activité dans le liquide traduit donc la libération du contenu lysosomial à l'extérieur des cellules. Cette mise en circulation d'enzymes dans la cavité articulaire s'effectue soit lors d'une phagocytose exagérée entraînant la dégranulation cellulaire, soit au cours de la destruction du cartilage. Nos résultats apparaissent significatifs

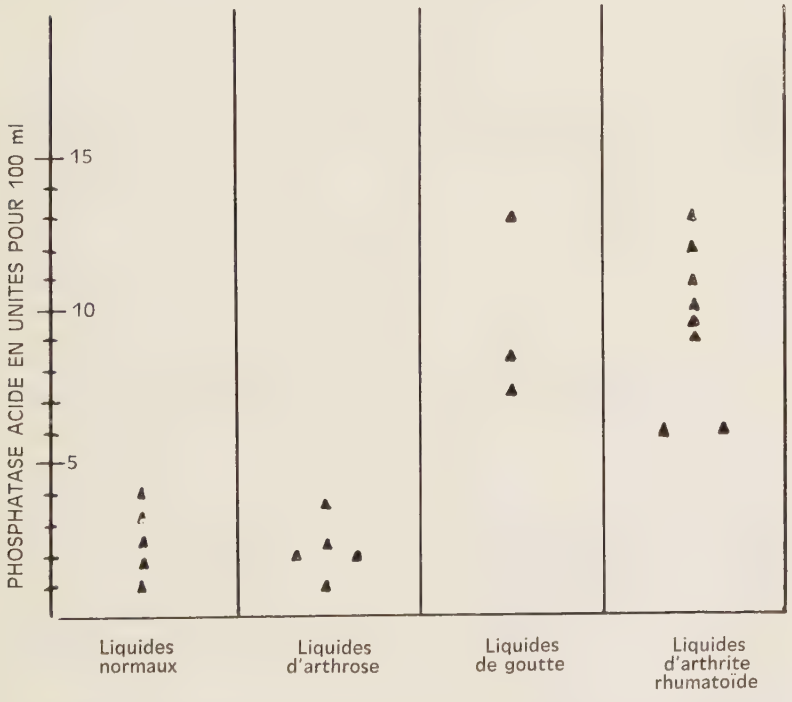


FIGURE 1 - TAUX DE PHOSPHATASE ACIDE DANS LES DIFFERENTS LIQUIDES SYNOVIAUX

puisque l'activité de la phosphatase acide, sur le phenylphosphate de sodium, se montre toujours faible dans les liquides normaux et ceux d'arthrose et constamment plus élevée dans les liquides inflammatoires de goutte et d'arthrite rhumatoïde **(Figure 1).**

Nos résultats sont en accord avec ceux de CAYGILL (14) et de LEHMAN (69). Cette augmentation semble bien être le reflet d'une libération lysosomiale puisque le taux de phosphatase alcaline est identique dans les différents liquides. Cependant, aucun rapport ne semble exister entre l'activité enzymatique lysosomiale et le degré de l'atteinte articulaire. Par contre, comme le montre le **tableau 1,** il apparaît un parallélisme entre le nombre de leucocytes et le taux de phosphatase acide dans les liquides d'arthrite rhumatoïde, ce qui tend à confirmer l'origine cellulaire de cet enzyme.

LIQUIDE SYNOVIAL D'ARTHRITE RHUMATOIDE	
Nombre de leucocytes par ml	Activité de la phosphatase acide en unités pour 100 ml
30.000	13
17.400	9,5
10.000 à 11.000	6

TABLEAU I - CORRELATION ENTRE LE NOMBRE DE LEUCOCYTES ET L'ACTIVITE ENZYMATIQUE D'ORIGINE LYSOSOMIALE DANS LES LIQUIDES D'ARTHRITE RHUMATOIDE

FACTEURS DE COAGULATION DANS LES DIFFERENTS LIQUIDES SYNOVIAUX.

I) LIQUIDE SYNOVIAL NORMAL :

Dans les liquides examinés, les principaux facteurs de coagulation sont absents (fibrinogène, proaccélérine) ou pré-

sents à des concentrations très faibles (facteurs antihémophiliques A et B, facteurs VII, X et II du complexe prothrombinique) ; seul le facteur XII s'y trouve à un taux plus élevé (compris entre 7 et 45 %par rapport à un plasma normal).

II) LIQUIDES SYNOVIAUX PATHOLOGIQUES :

A) LIQUIDES PRELEVES CHEZ DES SUJETS ATTEINTS DE GOUTTE :

Ces liquides ne semblent pas posséder d'activité coagulante (de type facteur X activé) détectable par les procédés que nous avons utilisés et de ce fait, le dosage des principaux facteurs de coagulation est spécifique. Ces facteurs de coagulation se trouvent dans les liquides synoviaux de goutte à un taux plus élevé que dans les liquides normaux à l'exception du facteur IX et surtout des facteurs V et VIII qui restent en général à l'état de traces souvent même indosables.

De l'examen de ces résultats, nous formulons l'hypothèse suivante : l'augmentation des facteurs de coagulation est la conséquence directe de l'hyperperméabilité vasculaire, permettant le passage dans la cavité articulaire de différentes protéines. La très faible teneur en facteurs VIII et V peut s'expliquer par leur grande labilité et par leur haut poids moléculaire excluant tout passage possible à travers l'endothélium capillaire.

L'étude du facteur XII nous a semblé particulièrement intéressante, puisqu'il ressort de la confrontation de tous nos résultats les conclusions suivantes :

— le taux de facteur XII des liquides synoviaux de goutte est constamment supérieur à celui des liquides normaux.

— Ce facteur XII paraît partiellement activé dans les liquides de goutte, et ce fait correspond à la présence de cristaux d'urate de sodium ou de pyrophosphate de calcium qui assurent l'activation de ce facteur.

— En outre, il semble que le taux de facteur Hageman soit inversement proportionnel au nombre de globules blancs du liquide **(Tableau II)**.

NOMBRE DE LEUCOCYTES PAR mm³	TAUX DE FACTEUR XII (Pourcentage par rapport au plasma normal)	
	Moyenne	Variations extrêmes
Inférieur à 3.000 *	75	55 - 90
Supérieur à 10.000 **	48	47 - 50

(*) 5 liquides examinés.
(**) 5 liquides examinés.

TABLEAU II - LIQUIDES SYNOVIAUX DE GOUTTE : CORRELATION ENTRE LE NOMBRE DE LEUCOCYTES ET LE TAUX DE FACTEUR XII

Pour expliquer cette dernière observation, nous avons émis une hypothèse sur la pathogénie de la crise de goutte : les cristaux d'urate de sodium, présents dans la cavité articulaire, activent et adsorbent une partie du facteur XII ; les cristaux ayant retenu le facteur Hageman entraînent la migration leucocytaire et seraient phagocytés préférentiellement. Cette fraction de facteur XII adsorbée et englobée dans les globules blancs n'interviendrait pas dans « l'activité XII » du liquide puisque la centrifugation, préliminaire à tout dosage, élimine cristaux et éléments figurés.

Nos conclusions semblent ainsi confirmer l'hypothèse de KELLERMEYER suggérant que la crise de goutte est induite par l'activation du facteur Hageman dans les liquides, et mettent également en évidence le rôle des éléments cellulaires.

B) LIQUIDES PRELEVES CHEZ DES SUJETS ATTEINTS D'ARTHROSE :

Ces liquides présentent certaines analogies avec les liquides de goutte puisque les facteurs XII, X, VII et II sont à des taux plus élevés que ceux des liquides normaux. De plus, le facteur Hageman semble également partiellement activé. Le mécanisme d'activation de ce facteur est cependant différent et l'on émet l'hypothèse que le contact du facteur Hageman avec une surface étrangère s'effectue ici, au niveau des zones d'érosion du cartilage.

C) **LIQUIDES PRELEVES CHEZ DES SUJETS ATTEINTS D'ARTHRITE RHUMATOIDE :**

1°) ARTHRITE RHUMATOIDE « SERO-NEGATIVE »

C'est une maladie présentant les signes cliniques de l'arthrite rhumatoïde classique, mais le facteur rhumatoïde, recherché par les réactions sérologiques classiques (test de Waaler Rose et test au latex : voir chapitre Matériel et Méthodes), est constamment absent du sérum des malades.

Les liquides synoviaux de ces malades ont été examinés : Ils sont tous dépourvus d'activité coagulante de type thrombokinase. Ils possèdent, par rapport aux liquides normaux, un taux élevé en protéines de la coagulation à l'exception de la proaccélérine et des facteurs antihémophiliques. Comme pour les liquides de goutte, cette augmentation peut être attribuée à l'hyperperméabilité vasculaire.

Le facteur XII étant une sialo-glycoprotéine, l'hyperactivité Hageman dans le liquide synovial aurait pu être le reflet d'une augmentation du taux sanguin de ce facteur, puisque une hyper-α 2-globulinémie sérique est constamment notée à l'électrophorèse. En réalité, cette hypothèse s'avère inexacte car le taux de facteur XII plasmatique, déterminé chez plusieurs malades, se montre toujours normal.

En outre, comme il apparaît au **Tableau III,** il ne semble pas exister une corrélation très nette entre le taux de facteur XII, le nombre de leucocytes et de ragocytes dans le liquide, et l'aspect évolutif de la maladie (clinique et biologique : vitesse de sédimentation). Cependant, il faut noter que le liquide synovial, possédant « l'activité XII » la plus forte (80 %) et un pourcentage très élevé de ragocytes par rapport au nombre total d'éléments figurés, provient d'un sujet qui présente une érosion du cartilage objectivée à la radiographie, et dont la maladie évolue depuis 13 ans. Et donc, si ces résultats se reproduisent par la suite, la détermination du taux de facteur XII dans les liquides synoviaux pourrait être effectuée dans le but d'établir un pronostic, car l'augmentation de ce facteur semble plus significatif que l'accélération de la vitesse de sédimentation.

LIQUIDE SYNOVIAL			Vitesse de sédimentation sanguine (1re heure en mm)	Erosion du cartilage *	Durée d'évolution de la maladie
Facteur XII en % par rapport au plasma normal	Leucocytes par mm3	Ragocytes en % par rapport au nombre total de leucocytes			
80	16.440	84	30	+	13 ans
60	30.000	34	27	0	1 an
60	4.000	26	112	0	5 ans
54	11.000	20	70	0	2 ans
52	10.200	49	35	0	1 an

(*) O cartilage normal + pincement au niveau du cartilage.

TABLEAU III - POLYARTHRITE RHUMATOIDE « SERO-NEGATIVE » : CORRELATION ENTRE DIVERSES DONNEES BIOLOGIQUES ET CLINIQUES

2) ARTHRITE RHUMATOIDE « SERO-POSITIVE »

Le facteur rhumatoïde apparaît dans le sérum, à l'occasion de cette affection ; sa présence entraîne la positivité des réactions sérologiques : test au latex, réaction de Waaler Rose. **Chez ces sujets, deux groupes de liquides synoviaux apparaissent :**

a) *Liquides à pouvoir coagulant élevé* (groupe 2).

Ils possèdent, nous l'avons précisé, une activité coagulante analogue à celle du facteur X activé. L'origine de ce facteur dans le liquide synovial peut être envisagée selon deux mécanismes différents :

— le premier mécanisme fait appel à la thromboplastinoformation endogène. Ainsi, le liquide synovial étant dépourvu de facteur V, le terme de la réaction est le facteur X activé. L'initiation est assurée par contact du facteur XII présent dans le liquide, avec une surface étrangère (tel le cartilage lésé) ;

— le deuxième mécanisme envisage la présence d'un facteur tissulaire, assimilable à la thromboplastine tissulaire, capable d'activer le facteur X en présence du facteur VII, tous deux présents dans le liquide synovial. Ce facteur tissulaire proviendrait soit d'une altération locale au niveau

de la cavité articulaire, soit des leucocytes ayant phagocyté le facteur rhumatoïde. Nous avons évoqué la présence possible de thromboplastine provenant de la lésion tissulaire au cours du prélèvement, mais nous croyons pouvoir infirmer cette origine avec certitude (tout au moins pour un grand nombre de liquides pour lesquels le recueil n'a pas été trop laborieux), car, d'une part, les liquides normaux, qui représentent les liquides les plus difficiles à prélever, ne possèdent pas d'activité coagulante de type facteur X activé, et d'autre part, nous avons vérifié que l'activité coagulante élevée d'un liquide synovial pathologique se montre pratiquement identique dans deux fractions différentes recueillies lors d'une seule ponction en changeant de seringue siliconée au cours du prélèvement ; (si l'activité était dûe à un facteur tissulaire provenant des tissus endommagés par la ponction, l'activité coagulante aurait été plus importante dans la première partie du prélèvement).

Il semblerait toutefois que l'activité coagulante du type facteur X activé, mise en évidence dans ces liquides synoviaux de polyarthrite rhumatoïde à « réaction sérologique positive », soit plutôt le fait de l'activation du facteur X, en présence, d'une part du facteur VII existant dans le liquide, et d'autre part de la thromboplastine partielle, dont l'origine peut être double (soit libération de leucocytes lors de la phagocytose d'un complexe protéique, soit libération à partir des tissus lésés). En effet, une activité coagulante de ce type n'a jamais été retrouvée dans les liquides de goutte, où, pourtant, une activation du facteur XII par les cristaux d'urate de sodium semble incontestable. En outre, la formation de microthromboses chez des malades atteints de Lupus érythémateux disséminé a été décrite, et l'hypothèse avancée, ci-dessus, pourrait s'étendre à cette affection (la libération de thromboplastine incomplète provenant également des leucocytes ayant phagocyté le complexe protéique, ou de la paroi vasculaire lésée par ce complexe), mais le phénomène restant local, il est difficile de le mettre en évidence biologiquement.

b) *Liquides à pouvoir coagulant modéré* (groupe 1).

Ces liquides synoviaux présentent une activité coagulante modérée ; en effet, l'addition de ces liquides aux plas-

mas de déficits congénitaux en différents facteurs de la coagulation entraîne un raccourcissement plus ou moins important de leur temps de céphaline, en matériel siliconé. La correction de ces temps de coagulation, toujours nette, est parfois en désaccord avec le taux faible de certains facteurs dans les liquides. C'est pourquoi nous avons envisagé la présence dans ces prélèvements :

— d'un facteur XII partiellement activé par une surface anormale (cartilage lésé par exemple).

— ou d'un facteur de type thromboplastique, qui, contrairement à celui du groupe précédent, n'influencerait pas le dosage spécifique des différents facteurs car son activité déjà faible dans les liquides non dilués est encore diminuée par dilution.

L'augmentation des facteurs XII, XI, X, VII et II peut être attribuée à l'hyperperméabilité vasculaire.

C) CORRELATION ENTRE LES DIFFERENTES DONNEES BIOLOGIQUES ET CLINIQUES

— Les liquides du groupe 2, à pouvoir coagulant élevé, proviennent, en grande partie, d'articulations pathologiques en grande poussée inflammatoire ou présentant une érosion du cartilage très marquée (allant jusqu'à la disparition de ce cartilage).

Toutefois, il faut noter que l'interprétation ne peut être effectuée qu'avec les liquides prélevés par piqûre franche, (non souillés par de la thromboplastine tissulaire provenant des tissus lésés au cours d'une ponction difficile).

Si un parallélisme entre les données cliniques et les facteurs de coagulation semble exister, aucun rapport ne peut être noté avec les autres résultats biologiques : nombre de globules blancs et pourcentage de ragocytes dans le liquide, accélération de la vitesse de sédimentation sanguine et degré de positivité de la réaction de Waaler-Rose.

— Les liquides du groupe I, à pouvoir coagulant modéré, proviennent, en général, de sujets atteints d'arthrite rhumatoïde moins sévère sans érosion du cartilage ou d'évo-

lution récente (1 an). Deux exceptions doivent cependant être signalées chez des malades montrant une affection assez évolutive avec dégradation nette du cartilage et ne présentant pas d'activité coagulante importante de type facteur X activé dans le liquide synovial. Une explication peut être donnée : Ce facteur serait présent initialement mais la dilution apportée par le très grand volume de liquide soutiré (50 à 60 ml) ne permet pas sa mise en évidence.

Par ailleurs, aucun rapport n'est trouvé entre le taux de facteur XII et le nombre total de leucocytes et de ragocytes dans les liquides de ce groupe.

En résumé, le degré de l'activité coagulante des liquides de polyarthrite rhumatoïde « séro-positive » semble être un bon critère pour évaluer l'atteinte des articulations, à condition que le prélèvement soit correctement effectué. Cette constatation reliée à l'observation de la fibrine dans les foyers inflammatoires conduit naturellement à l'hypothèse suivante : la formation de fibrine à ce niveau peut être expliquée par la présence dans les liquides synoviaux de facteurs de coagulation à l'état activé et de fibrinogène.

ACTIVITE FIBRINOLYTIQUE DES LIQUIDES SYNOVIAUX

L'inhibition exercée par les liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde à l'égard de l'urokinase paraît être intéressante car ce fait peut être relié à l'augmentation de perméabilité vasculaire produite chez le cobaye après inoculation de liquide synovial en présence d'acide epsilon aminocaproïque (EACA) ou d'acide methyl-aminocyclohexane (Amcha) (tous deux sont des produits inhibant l'activation du plasminogène en plasmine). Il y aurait donc dans les liquides inflammatoires une substance, n'existant pas dans les liquides normaux, dont l'action peut être comparée à celle de l'Amcha ou de l'EACA et qui jouerait un rôle important dans l'inflammation.

CONCLUSION

La pathogénie des affections articulaires de l'homme reste souvent imprécise et leur pronostic est difficile à établir. Pour cette raison, nous avons étudié les différents facteurs intervenant dans l'inflammation articulaire : les éléments cellulaires et les facteurs chimiques et enzymatiques du liquide synovial (enzymes d'origine lysosomiale, et enzymes de la coagulation et de la fibrinolyse). Les facteurs de la coagulation ont fait l'objet d'une étude très détaillée car d'après l'hypothèse de KELLERMEYER le facteur XII interviendrait dans la réaction inflammatoire, et il est reconnu que la fibrine possède un pouvoir phlogogène.

Au cours du présent travail, nous avons établi un schéma d'étude des facteurs de la coagulation, adapté à des milieux biologiques différents du plasma. L'absence de thrombine et d'antithrombine immédiate ou progressive dans le liquide synovial nous permet d'en effectuer une exploration détaillée. Pour vérifier la valeur des tests utilisés, nous avons défini plusieurs contrôles : la neutralisation du facteur XII par le sérum anti-facteur Hageman constituait le contrôle le plus spécifique. La présence d'une activité coagulante de type facteur X activé, dans certains liquides, influence le dosage spécifique des facteurs XII, XI, IX et VIII ; cette observation justifie l'utilisation de ces contrôles.

Les techniques utilisées ont donné des résultats différents selon les liquides étudiés.

Dans les liquides normaux, il y a peu d'éléments figurés ; dans les liquides inflammatoires, le nombre de ces derniers augmente. La présence de ragocytes n'est pas spéci-

fique de l'arthrite rhumatoïde, en effet ces cellules peuvent être retrouvées dans les liquides synoviaux prélevés au cours d'accès de goutte ou chez des sujets arthrosiques. Le taux de phosphatase acide faible dans les liquides normaux et arthrosiques apparaît plus élevé dans les liquides inflammatoires de la goutte ou de l'arthrite rhumatoïde. L'activité de cet enzyme semble parallèle au nombre d'éléments figurés présents dans le liquide ; l'augmentation de la phosphatase acide est donc le témoin de la libération par les éléments figurés de leur contenu lysosomial, responsable de l'inflammation.

L'étude de la coagulation aboutit de même à des résultats différents selon les liquides. Le liquide synovial normal est très pauvre en facteurs de coagulation, seul le facteur XII s'y trouve à des taux compris entre 7 et 45 % (par rapport au plasma normal).

Les liquides prélevés chez des sujets atteints d'arthrose sont plus riches que les liquides normaux en facteurs de la coagulation. Nous avons suggéré que cette augmentation pouvait être liée à l'hyperperméabilité capillaire, en effet les facteurs de poids moléculaire élevé ne pouvant pas franchir la paroi des capillaires ne sont jamais retrouvés dans ces liquides. En outre, le facteur XII apparaît à l'état partiellement activé. Cette activation pourrait être induite par la surface du cartilage rendue anormale du fait de l'érosion.

De même, les liquides de goutte présentent un taux relativement élevé en protéines totales et en certains facteurs de coagulation. Nos conclusions semblent être un argument supplémentaire à l'hypothèse de KELLERMEYER selon laquelle l'activation du facteur XII du liquide synovial par les cristaux d'urate de sodium serait nécessaire à l'établissement du processus inflammatoire.

Enfin, nous avons mis en évidence l'existence de deux types de liquides synoviaux chez les sujets atteints d'arthrite rhumatoïde. Certains liquides présentent une activité coagulante importante vis-à-vis de nombreux plasmas de déficits congénitaux en facteurs de la coagulation. Cette activité est équivalente à celle du facteur X activé. Les autres liquides ont, au contraire, un pouvoir coagulant difficile à

déceler par les techniques utilisées. Les résultats biologiques semblent concorder avec les données de la clinique humaine. En effet, les liquides présentant une activité coagulante importante sont en général prélevés chez des sujets porteurs de lésions inflammatoires sévères et évolutives. L'étude de la coagulation dans les liquides synoviaux peut donc être envisagée pour établir le pronostic de l'affection. Mais ce moyen d'investigation ne peut être réalisé qu'avec des liquides recueillis par ponction franche : la souillure par de la thromboplastine tissulaire, provenant d'un prélèvement traumatisant, conduit à des résultats biologiques erronés et faussement pathologiques du fait de la contamination.

Sur un plan plus théorique, cette étude nous a permis d'envisager des hypothèse sur l'origine de la fibrine recouvrant les lésions inflammatoires. Cette substance, terme final de la coagulation, possède en effet des propriétés phlogogènes.

L'extrême variation des résultats obtenus confirme la complexité du phénomène inflammatoire au cours des affections articulaires. Les modifications des facteurs de coagulation peuvent être à la fois le phénomène primaire permettant l'activation du système kallikréine-kinine, ou la résultante de la pathologie articulaire elle-même.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 21

PREMIERE PARTIE

L'inflammation articulaire. Position actuelle du problème . 23

I. Rôle les médiateurs chimiques dans l'inflammation 24

A) Histamine. 24
B) Sérotomine (5.H.T.). 24
C) Système kallikreine-kinine : 24
1) Etude du système :
— les Kininogènes,
— les Kallikreines,
— le facteur de perméabilité de Miles,
— le facteur XII de coagulation ou facteur Hageman,
— la plasmine.
2) Caractères de la bradykinine.
3) Rôle de la bradykinine dans la pathogénie de l'arthrite rhumatoïde et de la crise de goutte aiguë.

II. Rôle des facteurs cellulaires dans l'inflammation 29

A) Polynucléaires. 29
B) Lysosomes. 29
C) Pathogénie des arthrites. 29
1) Goutte et arthrite microcristalline.
2) Autres arthrites :
— dans l'arthrite rhumatoïde,
— dans le lupus erythémateux disséminé.

III. Rôle des facteurs de coagulation dans l'inflammation ... 30

A) Le facteur XII dans l'inflammation articulaire microcristalline. 30
1) Activation du facteur XII.
2) Facteur XII dans le liquide synovial normal.
3) Facteur XII et augmentation de la perméabilité vasculaire.
4) Cristaux d'urate et augmentation de la perméabilité vasculaire.
B) Le rôle des autres facteurs de coagulation. 32

DEUXIEME PARTIE

Matériel et méthodes 35

I. Etude de la coagulation 35

A) Matériel. 35
1) Plasma témoin.

2) Plasmas de sujets présentant un déficit congénital majeur en facteurs de la coagulation.
3) Liquides synoviaux.
4) Réactifs biologiques.
5) Réactifs non biologiques.

B) Méthodes. 41

1) Activité thrombique.
2) Temps de thrombine.
3) Antithrombine progressive ou antithrombine III.
4) Dosage du fibrinogène.
5) Dosage des éléments différentiels du complexe prothrombinique.
6) Etude de la génération de la thromboplastine endogène.
7) Temps de céphaline.
8) Dosage des facteurs VIII, IX, XII, X et V.
9) Méthodes d'étude du système fibrinolytique.
10) Prothrombinase dans les liquides.
11) Etude spécifique de l'activité du facteur Hageman par utilisation du sérum spécifique antifacteur XII.
a. étude de l'activité de l'antisérum,
b. choix de la dilution de l'antisérum à utiliser,
c. en résumé.

II. Etude enzymatique 47

A) Matériel. 47
B) Méthodes. 48

1) Activité estérasique effectuée sur BAME.
2) Activité phosphatasique acide et alcaline.

III. Etude cytologique 49

1) Numération des éléments.
2) Formule leucocytaire.
3) Recherche des ragocytes ou R.A. cells.

IV. Etude sérologique 50

1) Test au latex.
2) Réaction de Waaler-Rose.

TROISIEME PARTIE

Etude biologique des liquides synoviaux normaux et pathologiques 51

CHAPITRE PREMIER

Etude du liquide synovial normal 51

Caractères physiques des liquides synoviaux normaux. 51
Etude cytologique des liquides synoviaux normaux. 52
Etude chimique et enzymologique des liquides synoviaux normaux. 52
Etude des facteurs de coagulation. 53
I. Activité thrombique et Antithrombique immédiate. 53

II. Recherche du fibrinogène. 54

III. Facteurs du complexe prothrombinique. 54

A) Dosage spécifique des facteurs II, V, VII et X en présence de thromboplastine tissulaire.
B) Temps de céphaline de plasmas de déficit congénital en facteur V ou X, en présence du liquide synovial normal.

IV. Facteurs de la thromboplastinoformation endogène. 56

A) Action du liquide synovial normal sur la thromboplastinoformation endogène globale d'un plasma témoin. 56
B) Action du liquide synovial normal sur la coagulation des plasmas de déficit congénital majeur en facteurs XII, IX ou VIII. 57
1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.
2) Dosage des facteurs XII, IX et VIII par une méthode en un temps dans le liquide synovial normal.
3) Etude de la correction du temps de coagulation d'un plasma de déficit en facteur XII par le liquide synovial normal.
4) Rôle du chauffage et de l'adsorption du liquide synovial normal par différentes substances.

V. En résumé. 60

CHAPITRE II

Etude du liquide synovial d'arthrose 62

Caractères physiques des liquides synoviaux d'arthrose. 62
Etude cytologique des liquides synoviaux d'arthrose. 63
Etude chimique et enzymologique des liquides synoviaux d'arthrose. 64
Etude de la coagulation des liquides synoviaux d'arthrose. 65

I. Activité thrombique et antithrombine immédiate. 65

II. Fibrinogène. 66

III. Facteurs du complexe prothrombinique. 66

A) Dosage spécifique des facteurs II, V, VII et X, en présence de thromboplastine tissulaire. 66
B) Action du liquide synovial d'arthrose sur le temps de céphaline de plasmas de déficit congénital en facteur X ou en facteur V. 67
1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.
2) Essais de dosage des facteurs X et V (méthode utilisant la céphaline et le kaolin).

IV. Facteurs de la thromboplastinoformation endogène. 68

A) Action du liquide synovial d'arthrose sur la thromboplastinoformation endogène globale d'un plasma normal. 68

B) Action du liquide synovial d'arthrose sur les temps de coagulation de plasmas de déficit congénital majeur en facteurs XII, IX ou VIII. 68
1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.
2) Dosage des facteurs XII, IX et VIII (méthode en un temps, utilisant la céphaline et le kaolin).
3) Action de l'acide ellagique.
4) Effet du chauffage.

V. En résumé. 71

CHAPITRE III

Etude du liquide synovial de goutte 73

Caractères physiques des liquides synoviaux de goutte. 74
Etude cytologique des liquides synoviaux de goutte. 74
Etude chimique et enzymologique des liquides synoviaux de goutte. 75
Etude de la coagulation des liquides synoviaux de goutte. 76

ETUDE DES FACTEURS DE COAGULATION 76

I. Activité thrombique et antithrombine immédiate. 77

II. Fibrinogène. 77

III. Facteurs du complexe prothrombinique. 77
A) Dosage spécifique des facteurs II, V, VII et X, en présence de thromboplastine tissulaire. 77
B) Action du liquide synovial de goutte sur le temps de céphaline de plasmas de déficits congénitaux majeurs en facteur V ou X. 78
IV. Facteurs de la thromboplastinoformation endogène. 79

A) Action du liquide synovial de goutte sur la thromboplastinoformation endogène globale d'un plasma témoin. 79
B) Action du liquide synovial de goutte sur le temps de coagulation des plasmas de déficit congénital majeur en facteurs XII, IX ou VIII. 79
1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.
2) Dosage des facteurs XII, IX et VIII par une méthode spécifique en un temps.
3) Action de l'acide ellagique.
4) Spécificité du dosage du facteur XII dans le liquide synovial de goutte.
5) Effet du chauffage.

ACTIVATION DU FACTEUR HAGEMAN PAR L'URATE DE SODIUM 82

I. Effet des différents activateurs sur le temps de céphaline d'un plasma témoin. 83

II. Lieu d'action de ces activateurs. 83

A) Etude sur les facteurs de la thromboplastinoformation exogène. 83

B) Etude sur les facteurs de la thromboplastinoformation endogène. 84

III. Activation du facteur XII présent dans le liquide synovial normal par les cristaux d'urate de Sodium. 85

IV. Conclusion. 86

EN RESUME. 86

CHAPITRE IV

Etude du liquide synovial d'arthrose rhumatoïde 88

Caractères physiques des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde. 90

Etude cytologique des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde. 91

Etude chimique et enzymologique des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde. 92

Etude de la coagulation des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde. 94

I. Activité thrombique et antithrombine 94

II. Fibrinogène 95

III. Facteurs du complexe prothrombinique 96

A) Dosage spécifique des facteurs II, V, VII et X, en présence de thromboplastine tissulaire. 96

B) Action des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde sur le temps de céphaline des plasmas de déficit congénital en facteur X ou V. 98

1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.

2) Essais de dosage des facteurs V et X (par la méthode utilisant la céphaline et le kaolin).

a. liquides du groupe 1,

b. liquides du groupe 2.

IV. Facteurs de la thromboplastinoformation endogène 100

A) Action des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde sur la thromboplastinoformation endogène globale d'un plasma normal 101

B) Action des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde sur le temps de céphaline-kaolin d'un plasma normal 101

C) Action des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde sur le temps de céphaline de plasma de déficit en facteur XII, IX ou VIII 101

1) Action sur le temps de céphaline mesuré en tubes siliconés.

2) Essai de dosage des facteurs XII, IX et VIII.

a. Facteur XII,

b. Facteurs antihémophiliques A et B.

V. Caractères de l'activité coagulante des liquides d'arthrite rhumatoïde 106

A) Spécificité du dosage du facteur XII dans les liquides synoviaux 106
1) liquides du groupe 1,
2) liquides du groupe 2.

B) Effet du chauffage et de l'adsorption par les substances habituelles 111

C) Activité estérasique non spécifique des liquides synoviaux 111

D) Comparaison de l'activité coagulante des liquides synoviaux d'arthrite avec celle d'une thromboplastine tissulaire 112

E) Action des liquides synoviaux sur la prothrombine purifiée 113

VI. Activité fibrinolytique des liquides synoviaux de polyarthrite rhumatoïde, comparaison avec celle des liquides normaux 115

A) Activité lytique globale 115

B) Activité lytique sur plaques de fibrine chauffées : détermination de la plasmine 116

C) Action de la streptokinase 116

D) Action de l'urokinase - Etude des inhibiteurs de l'activation du plasminogène 116

VII. En résumé.

QUATRIEME PARTIE

Confrontation des résultats - Discussion 120

Caractères physiques des liquides synoviaux.
Constitution chimique des liquides normaux.
Facteurs de coagulation dans les différents liquides synoviaux.

I. Liquide synovial normal 121

II. Liquides synoviaux pathologiques 123

A) Liquides prélevés chez des sujets atteints de goutte. 123
B) Liquides prélevés chez des sujets atteints d'arthrose. 124
C) Liquides prélevés chez des sujets atteints d'arthrite rhumatoïde. 125
1) Arthrite rhumatoïde « sero-négative ».
2) Arthrite rhumatoïde « sero-positive ».
a) liquides à pouvoir coagulant élevé (groupe 2).
b) liquide à pouvoir coagulant modéré (groupe 1).
c) corrélation entre les différentes données biologiques et cliniques.

Activité fibrinolytique des liquides synoviaux d'arthrite rhumatoïde. 129

Conclusion 130

BIBLIOGRAPHIE

1. ALI S.Y. Biochem. J., 87, 403, 1963
2. ASTORGA G., BOLLET A. Arthritis Rheum., 8, 511, 1965
3. ASTRUP T., MULLERTZ S. Arch. Biochem., 40, 346, 1952
4. ASTRUP T., DARLING S. Acta Physiol. Scand., 4, 293, 1943
5. BAIN W.A., HELLIER F.F., WARIN R.P. Lancet (London), 11, 964, 1948
6. BARNETT E.V., BIENENSTOCK, BLOCK K.J. Amer. J. Med. 198, 143, 1913
7. BELL W.N., ALTON H.G. Nature (London), 174, 880, 1954
8. BIGGS R.M., EVELING J., RICHARDS G. Brit. J. Haemat., 1, 20, 1955
9. BIGGS R.M., Mac FARLANE R.G. Blood Coagulation and its Disorders - Blacwell Scientific Publication. Oxford, 3e edition, 1962
10. BJARNE, WAALER, Fourth International Congress of Biochemistry, Vol. X
11. BLUHM G.B., KIDALE J.M., BARNHART M.I. Henry Ford Hosp. Med. Bull., 14, 119, 1966
12. BOOLA K.D., CALLE J.P., SCHACHTER M. J. Physiol. (London),,75, 152, 1960
13. BROCKLEHURST W.E., HUMPHREY J.H., PERRY W.L.M. J. Physiol. (London), 129, 205, 1955
14. CAYGILL J.C., PITKEATHLY P.A. Ann. Rhum. Dis., 25, 137, 1966
15. CHRISTIN N.C.L. Arthritis Rheum., 2, 289, 1959
16. COCHRANE C.G., WEIGLE W.O., DIXON F.J. J. Exp. Med., 110, 481, 1959
17. COGGESHALL H.G., WARREN C.F., BAUER W. Anat. Rec., 77, 129, 1940
18. COLLIER H.O.J. La bradykinine et ses antagonistes. Actualités Pharmacol., Masson et Cie, Paris 14, 5, 1961
19. CURREY H.L.P., SWETTENHAW K.V. Brit. Med. J., 2, 481, 1965
20. DE DUVE C. Injury, Inflammation and Immunity (Symposium, 1 vol., 411 p., 1964, Williams et Wilfins Ed.)
21. DELBARRE F., KAHAN A., AMOR B., KRASSININE G. Presse Med., 72, 2129, 1964
22. DELORY, KING. Biochem. J., 39, 245, 1945
23. DICK F.W., JACKSON D.P., CONLEY C.L. J. Clin. Invest., 33, 1423, 1954
24. EISEN. Proc. Ray. Soc. Med., 59, 302, 1966
25. EGLI H., BUSCHA H. Tromb. Diath. Haemorrh., 3, 604, 1959
26. ELDER J.M., WILHELM D.L. Brit. J. Exp. Path., 39, 335, 1958

27. ELLIOT D.F., HORTON E.W., LEWIS G.P. Biochem. J., 78, 60, 1961

28. ELLIOT D.F., HORTON E.W., LEWIS G.P. J. Physiol. (London), 153, 473, 1960

29. ERDOS E.G., WOHLER J.R., LEVINE M.I. J. Pharmacol. Exper. Ther., 142, 327, 1963

30. EYQUEM A., PODLIACHOUK L. Diagnostic biologique des rhumatismes inflammatoires. Edition de la Tourelle, Paris.

31. FAIRES J.S., Mac CARTY D.J. Lancet (London), 2, 682, 1962

32. FOSTIROPOULOS G., AUSTEN K.F., BLOCH K.J. Arthritis. Rheum., 8, 219, 1965

33. FOLK J.E., GLADNER J.A. J. Biol. Chem., 231, 379, 1958

34. GLADNER J.A., FOLK J.E. J. Biol. Chem., 231, 393, 1958

35. GOLDFINGER S., MELMAN K.L., WERSTER M.E., SJOERDSMA A., SEEGMILLER J.E. Arthritis Rheum., 7, 311, 1964

36. GOMORI G. dans Methods in Enzymology, Vol. 1, New-York, 1955, Golowick et Kaplon Ed.

37. GOZSY B. et KATO L. Science 1957, 125, 934

38. GRAM H.G. J. Biol. Chem., 49, 279, 1921

39. GRAHAM R.C., EBERT R.H., RATNOFF O.D., MOSES J.M. J. Exp. Med., 121, 807, 1965

40. HAANEN C., MORSELT G., SCHOENMAKER S. Thromb. Diath. Haemorrh., 17, 307, 1967

41. HAMBERG U., ROCHA E. SILVA M. Arch. Int. Pharmacodyn., 110, 222, 1957

42. HARDISTY R.M., MARGOLIS J.M. Brit. J. Haemat., 5, 203, 1959

43. HEDBERG H., WORDEN A., LUNDQUIST A., AFZELLIOS B. Acta Med. Scand., 175, 347, 1964

44. HICKS N.D., PITNEY W.R. Brit. J. Haemat., 3, 227, 1957

45. HOLEMANS R., Mc CONNEL D. et col. Amer. J. Med. Sci., 251, 557, 1966

46. HOLEMANS R., ROBERTS H.R. J. Lab. Clin. Med., 64, 778, 1964

47. HOLLANDER J.L., Mc CARTY D.J., ASTORGA G., CASTRO-MURILLO E. Ann. Interm. Med., 62, 271, 1965

48. HUBBARD D., LUCAS G.L. J. Appl. Physiol., 15, 265, 1960

49. HUMPHREY J.H. Brit. J. Exp., 36, 268, 1955

50. HUMPHREY J.H. J. Exp. Path., 36, 283, 1955

51. IATIDRIS S.G., FERGUSON J.H., J. Clin. Invest., 41, 1277, 1962

52. JACQUELINE F., EYQUEM A., PODLIACHOUK L. Rev. Rhum., 24, 385, 1957

53. JANOFF A., ZWEIFACH B.W. J. Exp. Med., 120, 747, 1964

54. JOHNSTON C.L., BARROW E. Scand. J. Clin. Lab. Invest. (suppl. 84), 17, 52, 1965

55. JOHNSTON C.L., FERGUSON J.H., O'HANLON F.A. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99, 197, 1958

56. KAHN M.F., SOLNICA J., GUERIN B. L'actualité Rhumatologique, 182, 1967

57. KELLERMEYER R.W. J. Lab. Clin. Med., 70, 372, 1967

58. KELLERMEYER R.W., BRECKENRIDGE R.T. J. Lab. Clin. Med., 65, 307, 1965

59. KELLERMEYER R.W., BRECKENRIDGE R.T. J. Lab. Clin. Med., 67, 455, 1966

60. KELLERMEYER R.W., RATNOFF O.D. J. Lab. Clin. Med., 70, 365, 1967

61. KIND, KING E.J. J. Clin. Path., 7, 322, 1954

62. KING E.J. Brit. Med. Bull., 9, 160, 1953

63. KNIGHTS S.F., INGRAM G.I.C. J. Clin. Path., 20, 616, 1967

64. KOHN N.N., HUGUES R.R., Mac CARTY D.J., FAIRES J.S. Ann. Intern. Med., 56, 738, 1962

65. LACK C.H. Brit. Med. Bull., 20, 217, 1964

66. LANGDELL R.D., WAGNER R.H., BRINKHOUS K.M. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88, 212, 1955

67. LARRIEU M.J., WEILLAND C. Rev. Hemat., 12, 2, 1957

68. LASSEN M. Acta Physiol. Scand., 27, 371, 1952

69. LEHMAN M.A., KREAM J., BROGNA D. J. Bone Joint Surg., 46 a, 1732, 1964

70. LEWIS G.P. J. Physiol., 140, 285, 1958

71. LEWIS G.P. Physiol. Rev., 40, 647, 1960

72. LEWIS G.P. Ann. N.Y. Acad. Sci., 116, 847, 1964

73. LUCHERRINI T., CECCHI E., PORZIO R. Bollet-Centro-Reumatologia (Roma), 11, 88, 1965

74. Mc CARTY D.J. Arthritis Rheum., 8, 726, 1965

75. Mc CARTY D.J., HOLLANDER J.L. Ann. Int. Med., 54, 452, 1961

76. Mac CARTY D.J., KOHN N.N., FAIRES J.J. Ann. Int. Med., 56, 711, 1962

77. MARGOLIS J. Nature (London), 178, 805, 1956

78. MARGOLIS J. Nature (London), 180, 1464, 1957

79. MARGOLIS J. Nature (London), 181, 635, 1958

80. MARGOLIS J. Nature (London), 182, 1102, 1958

81. MARGOLIS J. J. Physiol., 137, 95, 1957

82. MARGOLIS J. J. Physiol., 144, 1, 1958

83. MARGOLIS J. Some Physical Aspects of Plasma/Surface reactions. Proc. VIII Intern. Cong. Hemat.

84. MARGOLIS J. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 37, 239, 1959

85. MARGOLIS J. Ann. N.Y.Acad. Sci., 104, 133, 1963

86. MARGOLIS J., BISHOP E.A. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 41, 293, 1963

87. MATCHETT M.O., INGRAM G.I.G. J. Clin Path., 18, 465, 1965

88. MELMON K.L., WEBATER M.E., GOLDFINGER S.C., SEEGMILLER S.E. Arthritis Rheum., 10, 13, 1967

89. MENKIN V. Biochemical mechanism in inflammation. 2e Edition 1956, Charles C. Thomas Ed., Springfield, Illinois, U.S.A.

90. MICHAELIS J. Biochem. J., 234, 139, 1931

91. MILES A.A. Ann. N.Y. Acad. Sci., 116, 855, 1964

92. MILES A.A., WILHELM. Brit. J. Exptl. Pathol., 36, 71, 1955

93. MOVAT H.Z., URIUHARA T., Mac MORINE D.L., BURKE S.S. Life Sci., 3, 1025, 1964

94. NIEWIAROWSKI S., PROU-WARTELLE O. Thromb. Diath. Haemorrh., 3, 593, 1959

95. NIEWIAROWSKI S., STACHURSKA J., WEGRZYNOWICZ Z. Thromb. Diath. Haemorrh., VII, 514, 1962

96. NITTA R., HAYASHI H., NORIMATSU K. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 113, 185, 1963

97. NOSSEL H.L. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 122, 16, 1966

98. OWREN P.A. Acta Med. Scand. Suppl., 194, 1947

99. OWREN P.A. Rev. Hemat., 7, 147, 1952

100. PARROT J.L., RUFF F., SAINDELLE A. Actualités de physiologie pathologique. La biologie de l'inflammation, 1966, Masson

101. PEKIN T.J. ZVAILERN J. Arthritis Rheum., 5, 314, 1962

102. PELTIER A. Rev. Rhum., 30, 137, 1963

103. PELTIER A., COSTE F., DELBARRE F. Presse Med., 74, 1523, 1966

104. PERKIN A.G., NIERENSTEN M. J. Chem. Soc., 87, 1412, 1905

105. PHELPS P., Mc CARTY D.J. Arthritis Rheum., 7, 746, 1964

106. PHELPS P., Mc CARTY D.J., J. Exp. Med., 124, 115, 1966

107. PHELPS P., PROCNOP D.J., Mc CARTY D.J. J. Lab. Clin. Med., 68, 433, 1966

108. PODLIACHOUK L., EYQUEM A., JACQUELINE F. Ann. Inst. Pasteur, 1958, 94, 659

109. RAJAN K.T. Nature (London), 210, 959, 1966

110. RATNOFF O.D., CRUM J.D. J. Lab. Clin. Med., 63, 359, 1964

111. RATNOFF O.D., DAVIE E.W. Biochem. J., 1, 967, 1962

112. RATNOFF O.D., DAVIE E.W., MALLETT D.L. J. Clin. Invest., 40, 803, 1961

113. RATNOFF O.D., MILES A.A. Brit. J. Exp. Path., 45, 328, 1964

114. RATNOFF O.D., MILES A.A. J. Lab. Clin Med., 60, 1009, 1962

115. RAWSON A.J., ABELSON N.M., HOLLANDER J.L. Ann. Inter. Med., 62, 281, 1965

116. REIMER St. M., NESSLER St., DEYKIN D. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 105, 438, 1960

117. ROCHA E. SILVA M. Ann. N.Y. Acad. Sci., 104, 190, 1963

118. ROCHA E SILVA M. Ann. N.Y. Acad. Sci., 116, 899, 1964

119. ROCHA E SILVA M., BERALDO W.T., ROSENFELD G. Americ. J. Physiol., 156, 261, 1949

120. ROCHA E SILVA M., BERALDO W.T., ROSENFELD G. Am. J. Physiol., 156, 261, 1949

121. ROCHA E SILVA M., ROSENTHAL S.R. J. Pharmacol. Exp. Ther., 132, 110, 1961

122. ROPES M., ROBERTSON W.V.B., ROSSMEISL E.C., PEABODY R.B., BAUER W. Acta Med. Scand., Suppl., 196, 1947

123. ROWLEY O.A., BENDITT E.P. J. Exp. Med., 103, 399, 1956

124. SCHOENMAKERS J., MATZE R., HAANEN C., ZILLIKEN F. Biochem. Biophys. Acta. 93, 433, 1964

125. SCHWERT W., TAKENAKA M. Biochem. Biophys. Acta, 16, 570, 1955

126. SEEGMILLER J.E., HOWELL R.R., MALAWISTA S. J.A.M.A., 180, 469, 1962

127. SEZE De S., MAITRE. Connaissance élémentaire du rhumatisme, 2e Edition, Expansion Editeur

128. SEZE De S., RYCKEWAERT A. La goutte, 1 vol., 268 pages, Paris 1960 Expansion Editeur

129. SEZE De S., RYCKEWAERT A., KAHN M.F. Sem. Hop. Paris, 38, 3499, 1962

130. SHAFRIR E., De VRIES A. J. Clin. Invest., 35, 1183, 1956

131. SMINK M. Cl., DANIEL T.M., RATNOFF O., STAVITSKY A. J. Lab. Clin. Med., 819, 1967

132. SMINK M., RATNOFF O.D. J. Lab. Clin. Med., 68, 1017, 1966

133. SORENSEN S.P.L. Biochem. J., 21, 131, 1909

134. SORENSEN S.P.L. Ergebn. Physiol., 12, 393, 1912

135. SOULIER J.P., LARRIEU M.J. Sang, 23, 459, 1952

136. SOULIER J.P., LARRIEU M.J. Sang, 24, 3, 1953

137. SOULIER J.P., WARTELLE O., MENACHE D. Brit. J. Haemat., 5, 121, 1959

138. SOULIER J.P., WEILLAND C. Path. Biol., 7, 2541, 1959

139. SPECTOR W.G., WILLOUDHBY D.A. Nature (London), 179, 318, 1957

140. SPEER R.J., RIDGWAY H., HILL J.M. Thromb. Diath. Haemorrh., Vol. XIV, 1, 1965

141. THOMAS L., UHR J.W., GRANT L. Injury, inflammation and immunity (Symposium) 1 vol., 411 p., 1964, Williams et Wilfins

142. VAUGHAN J.H., JACOX, RALPH F., NOELL P. Arthritis Rheum., 11, 135, 1968

143. VOGT W. J. Physiol., 168, 44, 1963

144. WEBSTER M.E., PIERCE J.H. An. N.Y. Acad. Sci., 104, 91, 1963

145. WEBSTER M.E., PIERCE J.H. J. Pharmacol. Exp. Ther., 130, 484, 1960

146. WEBSTER M.E., RATNOFF O.D. Nature (London), 192, 180, 1961

147. WEILLAND C., SOULIER J.P. Path. Biol., 7, 2531, 1959

148. WEISSMANN G. Arthritis Rheum., 9, 834, 1966

149. WEISSMANN G. Lancet (London), 1373, 1962

150. WILHELM D.L., MILES A.A., MACKAY M.E. Brit. J. Exp. Path., 36, 81, 1955

151. YI-HAN-CHAND, GRALIA E.J. Arthritis Rheum., 11, 145, 1968

152. ZEVELEY H.A., FRENCH A.J., MIKKLESEN W.M., DUFF I.F. Amer. J. Med., 20, 510, 1959.

Vu et permis d'imprimer
Paris le 26 septembre 1968
le Doyen P. Malongeau
Série E n° 178

IMPRIMERIE J.A.T.
TYPO - OFFSET
PARIS